

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Biología Vegetal II



TESIS DOCTORAL

Estudio ecofisiológico de macrolíquenes de bosques de lluvia templados en
el centro-sur de Chile

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Johana Villagra Espinoza

Directores

Leopoldo García Sancho
José Raggio Quilez

Madrid, 2018

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA VEGETAL II



**ESTUDIO ECOFISIOLÓGICO DE MACROLÍQUENES DE
BOSQUES DE LLUVIA TEMPLADOS EN EL CENTRO-SUR
DE CHILE**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR

JOHANA VILLAGRA ESPINOZA

DIRIGIDA POR LOS DOCTORES:

LEOPOLDO GARCÍA SANCHO Y JOSÉ RAGGIO QUILEZ

MADRID, 2017

Don Leopoldo García Sancho, Doctor en Ciencias Biológicas y Catedrático de Botánica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid y Don José Raggio Quilez, Doctor en Farmacia e Investigador contratado del Departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid informan de que:

La memoria titulada “Estudio ecofisiológico de macrolíquenes de bosques de lluvia templados en el centro-sur de Chile” que presenta Johana Villagra Espinoza, Licenciada en Ciencias Biológicas, para optar al Grado de Doctor, ha sido realizada en el Departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia de la UCM bajo su dirección, reuniendo todas las condiciones exigidas a los trabajos de tesis doctoral.

Madrid 25 de Junio de 2017

Fdo.: Leopoldo García Sancho

Fdo.: José Raggio Quilez

RECONOCIMIENTOS

Esta tesis doctoral ha sido desarrollada en el Departamento de Biología Vegetal II de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, gracias a la financiación proporcionada por la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica, CONICYT, a través de su Programa Formación de Capital Humano Avanzado, “Becas Chile” (programa dependiente del Ministerio de Educación de Chile).

Los proyectos CTM2012-38222-C02-01 (PALN-SUCCESS) y CTM2015-64728-C2-1-R (CRYPTO-COVER) financiados por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad del gobierno de España, y el Proyecto Europeo BIODIVERSA-SCIN (PRI-PIMBDV 2011-0874) proporcionaron recursos fundamentales para el desarrollo de la tesis y aumento de oportunidades de formación como material de laboratorio, viajes y congresos.

La Corporación Nacional Forestal de Chile Región de los Ríos proporcionó apoyo técnico y humano para llevar a cabo el trabajo de campo necesario para la ejecución de este doctorado.

A mis padres, Rosa y José

A Pamela

AGRADECIMIENTOS

Intentaré resumir en unas líneas la gratitud que siento a todos aquellos que con su ayuda han colaborado a la realización de esta tesis doctoral y por sobre todo a quienes han mantenido mi motivación para cerrar este ciclo. A mis directores, Leopoldo García Sancho y José Raggio, por exigir una mejor versión de este trabajo y de mí, sé que muchas veces no fue fácil pero frente a los momentos críticos estuvieron cerca y me animaron a seguir. Leo, te agradeceré siempre aceptar mi ingreso al Departamento de Biología Vegetal II y con ello, todo lo que significó el proceso de postulación al doctorado y a la beca. Agradezco también tu confianza y respetar mi fijación con los líquenes de aquellos bosques valdivianos! Especial agradecimiento a Begoña Elorza, fundamental en mi incorporación a la Facultad, siempre encontré una respuesta positiva a los infinitos documentos que necesité antes de venir y después también...porque no nos podemos olvidar de extranjería, claro que no!

Agradezco a todo el Departamento de Biología Vegetal II, por concederme un lugar en el que trabajar, por acercarse y apoyarme cada vez que los necesite para que todo esto haya salido adelante. A Charo, por su paciencia en mis papeleos del principio y del final del programa!!. A la Dra. Ana Pintado, quien con sus sugerencias ayudo a fortalecer aspectos importantes de esta tesis pero sobretodo, te agradezco la confianza y constante animo! Chema, muchas gracias por hacer las jornadas de cubeteo mas amenas...por las propuestas de reanimación a los líquenes ☺ y por activar el plan de emergencia cuando llegaba con material fresco!! José Antonio, muchas gracias por tu disponibilidad y colaboración en este trabajo, aun mas por todos tus buenos consejos! A las profesoras Margarita Torres, Soledad Martín y M^a Dolores Saco (D.E.P) por su compañía y consejos que mantuvieron mi ánimo arriba en esas extensas jornadas de extracción de clorofilas!

A todos mis compis del Departamento de Biología Vegetal II, gracias por acompañarme en este montaña rusa de emociones!! Mer y Clara les agradezco especialmente todos los consejos para lanzarme al cubeteo, por la generosidad al compartir sus conocimientos y todo el tiempo que invirtieron en mí...son un par de bellas. Clara...hayyy las chicas de Ipanema y la chicas Tijoux...muchas gracias por hacer esos espacios tan amenos!! Zuzana, Bea V-Javi, Tino, Alberto con mi mejor sonrisa les agradezco tanto-tanto, siempre atentos, regaloneándome un montón todo este tiempo, infinitas gracias por todo!! Elena Castoldi hiciste muchísimo más fácil mis primeros meses aquí...dejaste rodando para que todo fluyera...y fluyo!! Bea R y David muchas gracias por los consejos y paciencia mis primeros días en Madrid ...aun me sigo despistando en el metro pero bueno hay cosas que no cambian!! Pepe rescatándome estos últimos viajes tal cual lo hiciste ese primer viaje sola a la facultad muchas gracias...el Super PePe!!!! Alba, Guille, Jano, Carlos, Ana

Lumbreras, Anita Ga-Mdrd, David Pizarro, David Alors, Roberto, muchas gracias por todos los momentos agradables y también terapéuticos que hemos pasado juntos chiquillos!!

A todos los que ocupan un lugar especial en mi vida y que no he podido ver en tanto tiempo, han sabido disculpar mis ausencias y siempre han tenido una palabra de ánimo. Soy muy afortunada de tenerlos y aunque no hace falta que los nombre, saben quiénes son y lo importantes que son para mí, aunque como no nombrar a Sandrin, Pauli, Astrid, Pablo, Guille, Ine, Karin, Ale, Lubi, Vicky, Dani, Erwin, Yessi y muchos más quienes siempre de una u otra forma han estado conectados conmigo enviándome su cariño constantemente. En breve voy por esos abrazos! A Sofi y Reyes, vaya que nos hemos reído chicas, muchas gracias por disculpar mis ausencias y por esas tardes tan agradables en Santa María de la Cabeza. A Dany y Sandra lo mismo, conscientes de este último esfuerzo, siempre riendo...pa' no llorar no ma'.

A mis padres por haberme enseñado que la vida es para valientes, por quererme tanto, por confiar en mí y en cada una de mis decisiones incondicionalmente, por mantenerse fuertes estos años que no he podido acompañarles como hubiese querido. Por tanta generosidad mis amores!!! Agradezco a todos sus amigos quienes de forma tan generosa han compartido tantos momentos familiares en los que no pude estar con ustedes. Ya tendré tiempo de visitar a esa gran familia!

A David, por hacerme reír tanto y por tener medidas de emergencia para casi todos mis estados críticos. Por no darle espacio a mis miedos y tenderme tu mano para continuar. Por tu familia que siempre me ha tratado con tanto cariño!

Agradezco también, a todo el personal del Parque Nacional Alerce Costero, especialmente el apoyo constante de Patricio Contreras quien puso las cosas fáciles y comprendió mis tiempos y viajes. A Don Rene Cárdenas también, muchas gracias a ambos por la excelente disposición y por enriquecer mis viajes con su conocimiento y voluntad. Por enseñarme y proponerme áreas tentativas para desarrollar este trabajo.

Al Dr. Carlos Ramírez García, tengo claro que todo hubiese sido más difícil sin tus consejos y constante motivación!! Incluso cuando el sistema no cedía ahí estuviste manteniendo mi ilusión, hasta que logré la beca. Muchas gracias por tanto profe!!!

A los profesores José San Martín Acevedo, Juan Zamorano Gómez, Jorge Redon, Eduardo Valenzuela, Roberto Godoy quienes estuvieron en el principio de este viaje y apoyaron y guiaron en el proceso, especialmente E. Valenzuela quien me hizo tanto ruido con los líquenes.

A todas las personas que, aunque no aparezcan aquí con nombres, invirtieron tiempo en darme ánimos y han hecho posible que hoy vea la luz. A tod@s muchísimas gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1-6
SUMMARY	7-12
INTRODUCCIÓN GENERAL	13-25
OBJETIVOS Y ESTRUCTURA DE LA TESIS	27-29
 CAPÍTULO I	 31
Distribución horizontal y vertical de macrolíquenes epífitos en un bosque siempreverde de la cordillera de la costa valdiviana.	
Introducción	32-34
Materiales y Métodos	34-39
Resultados	39-49
Discusión	49-52
 CAPÍTULO II	 53
Respuesta a la desecación prolongada de macrolíquenes epífitos en un bosque siempreverde de la cordillera de la costa valdiviana.	
Introducción	54-57
Materiales y Métodos	57-63
Resultados	63-71
Discusión	72-78
 CAPÍTULO III	 79
Adaptaciones hídricas y anatómicas relacionadas con la distribución de líquenes epífitos en bosques templados del sur de Chile.	
Introducción	80-82
Materiales y Métodos	82-87
Resultados	87-92

Discusión	92-96
CAPÍTULO IV	97
Comparación ecofisiológica de macrolíquenes adaptados a diferentes ambientes forestales en Chile	
Introducción	98-102
Materiales y Métodos	102-106
Resultados	106-119
Discusión	120-128
CONCLUSIONES GENERALES	129-131
BIBLIOGRAFÍA	132-151
ANEXOS	153-157

RESUMEN

**TÍTULO: ESTUDIO ECOFISIOLÓGICO DE LOS MACROLÍQUENES DE BOSQUES DE LLUVIA
TEMPLADOS EN EL CENTRO-SUR DE CHILE**

La Cordillera de la Costa de la Región de los Ríos coincide dentro de los centro de mayor biodiversidad y endemismos del mundo (Myers et al., 2000). Además de enmarcarse dentro de los 35 puntos calientes o “*hotspots*” mundiales de biodiversidad (Mittermeier et al., 2011). Sin embargo, precisamente estas zonas (35° y 41° latitud Sur) sufren la mayor transformación del paisaje debido a la sustitución del bosque nativo por plantaciones forestales y otros usos agrícolas. Esta gestión del hábitat acarrea una pérdida de biodiversidad debido a una alta destrucción por degradación y fragmentación del bosque nativo (Lara et al., 1997), lo que se podrían agravar si consideramos un probable aumento de la temperatura (variable según el tipo de modelo utilizado) y una alteración de la cantidad como también la distribución de las precipitaciones en la zona (CEPAL, 2009; IPCC, 2014). El resultado de la combinación de ambos factores es una clara amenaza a los recursos hídricos, y en consecuencia a la vegetación natural, principalmente sobre aquellas que para mantener su metabolismo activo necesitan disponibilidad de agua en el ambiente. En este contexto, se ha planteado en la siguiente tesis doctoral un estudio global que reporte la diversidad, los requerimientos ecológicos y la respuesta fisiológica ante las condiciones ambientales de especies de macrolíquenes en un bosque lluvioso templado de la Cordillera de la Costa en la Región de los Ríos dentro de un área natural protegida.

Estos objetivos se pueden resumir en cuatro preguntas concretas:

1. ¿Varía la diversidad de especies a escala local y en función del microclima?
2. ¿Cuál es el límite de tolerancia frente a una simulación de cambio de las relaciones hídricas y frente al aumento de radiación?
3. ¿Explican los rasgos funcionales (STM y WHC) y anatómicos patrones de adaptación y /o preferencia de hábitats entre las diferentes especies?
4. ¿Refleja la respuesta fotosintética la preferencia de hábitat de las especies mediante los parámetros evaluados en este estudio?

METODOLOGÍA

Los cuatro capítulos que estructuran la tesis doctoral abordan el estudio de macrolíquenes epífitos de los bosques de la región centro-sur de Chile desde distintas perspectivas. En primer lugar, dentro de un bosque lluvioso templado siempreverde (desde aquí denominado bosque mixto) se seleccionaron tres especies arbóreas representativas dentro del área. Estas fueron *Nothofagus*

nitida (Phil.) Krasser, *Saxegothaea conspicua* Lindl., ubicadas en la zona más central y sombría de la parcela y *Drimys winteri* J.R.Forst. & G.Forst. localizado en las zonas más expuestas y cercanas al borde del bosque. Así sobre estas tres especies arbóreas se llevaron a cabo estudios *in situ* sobre la diversidad, distribución de las especies a escala local (bosque) y microhábitats (árbol) en relación a las condiciones ambientales de humedad y temperatura. En segundo lugar, la estratificación vertical de las condiciones microclimáticas ofrecidas por la especie hospedera sugirieron adaptaciones a cortos periodos de desecación, por lo que se evaluó la respuesta a la desecación prolongada mediante la evaluación del rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (Fv/Fm) y concentración de pigmentos. Además, mediante curvas rápidas de luz (fluorescencia) se midió *in situ* la respuesta a diferentes niveles de radiación en especies con diferentes patrones de distribución en el bosque. En tercer lugar se estudiaron rasgos de adaptación hídrica reflejados en la capacidad de retención de agua (WHC), masa específica del talo (STM) y anatomía interna de las especies en climas contrastados que puedan explicar la distribución de estos epífitos en los bosques templados del sur de Chile. Como especies contraste se seleccionaron macrolíquenes de un bosque de *Araucaria araucana* (Mol.) K. Koch. el cual presenta un dosel más abierto que el bosque mixto. Finalmente, se analizó la respuesta fotosintética de macrolíquenes procedentes de estos dos hábitats estructuralmente diferentes frente a las variaciones de contenido hídrico y luz mediante medidas de intercambio gaseoso bajo condiciones controladas de laboratorio. Las curvas de respuesta a la luz permiten conocer la máxima tasa de fotosíntesis y los puntos de compensación (PC) y saturación de luz (PS).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La riqueza de macrolíquenes epífitos fue significativamente mayor en *N. nitida* la cual se diferenció estadísticamente de *S. conspicua* y *D. winteri*. A nivel de estratos nuestros resultados indican que las diferencias significativas en riqueza de especies solo se presentan en *D. winteri*, con mayor número de especies en el estrato superior. Sin embargo, la distribución de ciertas especies indicó preferencias en su distribución respecto a diferentes microambientes ofrecidos por el forófito, reuniendo el mayor número de clorolíquenes en el estrato superior de los forofitos, mientras que la mayor distribución de cianolíquenes se registró en el estrato inferior, donde las condiciones son más sombrías y de mayor humedad. Estas preferencias también fueron sostenidas por el mayor porcentaje de cobertura obtenido y apoyadas por la distribución de grupos funcionales. (Capítulo I). Los líquenes del bosque lluvioso templado han resultado ser sensibles al tratamiento de desecación prolongada, con una respuesta variable y específica de cada especie. El grupo de cianolíquenes es el más sensible al estrés cayendo su Fv/Fm a trece días de tratamiento.

Le siguen los líquenes fruticulosos y el grupo de líquenes foliosos con márgenes amplios (*Pseudocyphellaria berberina* y *P. nitida*) también a trece días, posteriormente decaen *P. divulsa* y *S. ainoae* a 53 días de estrés. Se registró un incremento significativo en los valores de fluorescencia basal a lo largo del periodo de estudio en todas las especies, así como una disminución de impacto variable vinculado a cada especie en la composición de pigmentos (Capítulo II). En cuanto a las relaciones hídricas, se encontró que los valores de masa seca (DM) y el tiempo de desecación de los talos de las especies de *A. araucana*, fueron mayores que en las especies del bosque mixto. Junto con ello, en dos de tres especies los parámetros STM y WHC fueron estadísticamente mayores en los macrolíquenes del bosque de *Araucaria araucana* que en las especies del bosque mixto, lo que indica una mayor relación área/peso en estas últimas. Respecto a las relaciones hídricas frente a la anatomía, se establecieron vínculos entre las especies al analizarlas en conjunto e indican una relación entre el grosor del córtex superior, médula y capa algal con la capacidad de almacenamiento de agua (Capítulo III).

Respecto al capítulo IV, se han establecido tres grupos principales respecto a la respuesta de FN a altos contenidos hídricos. Líquenes fruticulosos, líquenes foliosos con cífelas (*Sticta caulescens* y *Sticta ainoae*) mostraron mayor tolerancia de fotosíntesis neta a altos contenidos hídricos. Las especies con pseudocífelas presentaron mayor depresión de fotosíntesis frente a altos contenidos hídricos. Se encontró un comportamiento heterogéneo respecto a la respuesta frente a la luz en las especies del bosque mixto. Sin embargo, se confirmaron tendencias adaptativas a bajas intensidades de luz en algunas de las especies en este bosque respecto a los PC y PS de luz (por ejemplo, *S. caulescens* y *P. nitida* presentaron puntos de compensación de 29 ± 2 y $40 \pm 3 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente). Las especies de araucaria mostraron una adaptación a niveles intermedios de luz respecto a Green *et al.*, (1997). Presentaron una respuesta más homogénea entre ellas, sin embargo pese a que los valores brutos fueron más altos respecto a los PC y PS de luz, estadísticamente no se diferenció como grupo de las especies del bosque mixto (Capítulo IV).

Se ha generado información cuantitativa y cualitativa inédita acerca de la respuesta ecofisiológica de macrolíquenes conspicuos presentes en bosque templados lluviosos del centro-sur de Chile. Nuestros resultados han permitido resaltar la importancia de la continuidad de este tipo de ambientes protegidos debido a la heterogeneidad de microhábitats y estructura forestal que permite mantener a comunidades epífitas adaptadas a la sombra y con altos requerimientos hídricos, los cuales frente a un cambio de condiciones podrían verse perjudicados. En este sentido, además aportan información valiosa relacionada con la posible respuesta de estos organismos frente a cambios ambientales previstos para la región, mostrando un importante decaimiento del potencial fotosintético de líquenes de bosques lluviosos templados que nos ha permitido hasta

cierto punto predecir la vulnerabilidad de las especies frente a un escenario de estrés. Además la diversidad anatómica de los líquenes sugieren que los estudios futuros deben considerar cuidadosamente las propiedades estructurales para poder diferenciar estrictamente dentro de un grupo y mejorar nuestra comprensión del funcionamiento ecofisiológico de estos líquenes que predominan el sotobosque de los bosques templados del sur de Chile. Cabe destacar además, la importancia de desarrollar estudios ecofisiológicos a largo plazo que permitan conocer la respuesta y adaptación de estos organismos, especialmente vulnerables a posibles cambios ambientales como se han demostrado en esta tesis doctoral.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados se extrajeron las siguientes conclusiones generales:

- La diversidad de especies presentes en el bosque siempreverde varía horizontalmente entre los forófitos estudiados, reuniendo la mayor diversidad de macrolíquenes en *Nothofagus nitida* (interior del bosque) (Capítulo I).
- La distribución de cianolíquenes y líquenes foliosos con cífelas es mayor en el estrato inferior más sombrío y de mayor humedad, mientras que la mayor distribución de clorolíquenes y especies indicadoras de zonas expuestas se reúne en el estrato superior (Capítulo I).
- Seis de ocho especies estudiadas mostraron una elevada sensibilidad a un periodo de trece días de desecación, entre ellos se encuentran todas las especies de cianolíquenes. Sin embargo, *Sticta ainoae* y *Pseudocyphellaria divulsa* mostraron daño por desecación a los 53 días de tratamiento (Capítulo II).
- La disminución de F_v/F_m durante el periodo de desecación junto con un aumento de F_0 sugiere que el estrés hídrico podría estar generando un aumento de la fotoinhibición (Capítulo II).
- Los líquenes del bosque siempreverde muestran adaptaciones a bajas radiaciones estimados por diferentes parámetros como evolución del Yield, valor de ETR máximo y punto de saturación de luz por fluorescencia (Capítulo II).
- Las especies del bosque mixto y las especies del bosque de araucaria mostraron una tendencia a separarse por los parámetros DM, STM, WHC y tiempo de deshidratación tras saturación de las especies (Capítulo III).
- Respecto al grosor del talo, dos de tres especies de *A. araucana* son significativamente más gruesas que las especies del bosque mixto, indicando que este puede ser un parámetro adaptativo importante al ambiente (Capítulo III).

- La respuesta fotosintética frente al contenido hídrico y frente a la luz en las especies del bosque mixto fue más diversa que entre las especies del bosque de araucaria que fue más compacta (Capítulo IV).
- El mayor tiempo en óptimo de fotosíntesis se presentó en las especies del bosque de araucaria, lo que indica una adaptación a mayor exposición ambiental. Esto se ve apoyado en mayores valores de fotosíntesis neta para estas especies desde el punto de vista cuantitativo (Capítulo IV).
- *S. ainoae* se diferenció del resto de especies del bosque mixto presentando más del doble del valor de máxima FN, así como un periodo de actividad considerablemente más alto respecto a esta unidad vegetacional, convirtiéndola en la especie más competitiva desde el punto de vista fisiológico (Capítulo IV).

SUMMARY

TITLE: ECOPHYSIOLOGICAL STUDY OF TEMPERED RAIN MACROLICHENS IN THE SOUTH CENTRAL CHILE.

The coastal mountains of Región de los Ríos (Chile) match within the center of one of the greatest biodiversity and endemism of the world (Myers et al., 2000). Besides, it is marked as a world biodiversity “hotspot” (Mittermeier *et al.*, 2011). However, this zone (35° and 41° south latitude) is suffering the biggest landscape transformation due to the native forest substitution with the forest plantations and for agricultural uses. This habitat management produces a biodiversity loss because of the high destruction rate for degradation and fragmentation of the native forest (Lara *et al.*, 1997). Further, it may become worse if it's considered a probable temperature increase (variable depending of the model type used) and an alteration related to quantity and precipitation distribution (CEPAL, 2009; IPCC, 2014).

The result of the combination of both factors is a clear threat to the water resources, and consequently to natural vegetation, especially those that need water availability in the environment to maintain their metabolism system activated. In this context, the following doctoral thesis has considered a global study that reports the diversity, ecological requirements and physiological response to the environmental conditions of macrolichens species in a temperate rainforest of the Coastal Mountains of Los Ríos Region, within a protected natural area.

These objectives can be summarized in four main questions:

1. Does the diversity of species vary at local and microclimate levels?
2. What is the tolerance limit to a simulation that changes the water relations and increases radiation?
3. Do they explain the functional traits (STM and WHC) and anatomical patterns of adaptation and / or habitat preference among different species?
4. Does the photosynthetic response reflect the habitat preference of the species using the parameters evaluated in this study?

METHODOLOGY

The four chapters that give structure to the doctoral thesis deals with the study of macrolichen epiphytes of the south central forests of Chile from different perspectives. First, in an evergreen temperate rainforest (from here called mixed forest) three representative tree species were selected within the area. These were *Nothofagus nitida* (Phil.) Krasser, *Saxegothaea conspicua*

Lindl., located at the center and darker areas of the plot, and *Drimys winteri* J.R.Forst. & G.Forst. located in the most exposed areas and near the edge of the forest.

Thus, in situ studies on the diversity, distribution of the species at local scale (forest) and microhabitats (tree) related to the environmental conditions of moisture and temperature were carried out on these three species. Secondly, the vertical stratification of the microclimatic conditions offered by the host species suggested adaptations to short periods of drying. Therefore, the response to sustained desiccation was evaluated through the maximum quantum yield of photosystem II (F_v / F_m) and pigments concentration. In addition, by rapid light curves (fluorescence), the response to different levels of radiation in species with different distribution patterns in the forest was measured *in situ*. In the third place, it were reviewed water adaptation features (WHC), specific mass of the stalk (STM) and internal anatomy of the species in contrasting climates that could explain the distribution of these epiphytes in the south central temperate forests of Chile. As contrasting species, macrolichens were selected from *Araucaria araucana* (Mol.) K. Koch forest type, which represents a more open canopy than the mixed forest. Finally, the photosynthetic response of macrolichens from these two structurally different habitats was analyzed due to variations in water content and light by gaseous exchange measurements under controlled laboratory conditions. The light response curves allow to know the maximum rate of photosynthesis and the compensation points (PC) and light saturation (PS).

RESULTS AND DISCUSSION

The richness of epiphytic macrolichens was significantly higher in *N. nitida* than *S. conspicua* and *D. winteri*. At stratum level our results indicate that significant differences in species richness are only present in *D. winteri*, with a higher number of species in the upper stratum. However, the presence of certain species indicated a tendency in their distribution related to different microenvironments offered by the phorophyte. The highest number of chlorolichens was found in the upper stratum of the phorophytes, while the largest distribution of cyanolichens was registered at the lower stratum, where conditions are more dark and moist. These preferences were also supported by the high percentage of coverage obtained and supported by the distribution of functional groups. (Chapter I). Temperate rainforest lichens have been found to be sensitive to the prolonged desiccation treatment, with response to both variable and specific for each species. The cyanolichens group is resulted the most sensitive to stress, decreasing its F_v/F_m after thirteen days of treatment, followed by fruticose lichens and the group of foliose lichens with wide margins (*Pseudocyphellaria berberina* and *P. nitida*) also at thirteen days. Later, *P. divulsa* and *S. ainoae* were decomposed at 53 days of stress. There was a significant increase in basal fluorescence values

throughout the study period in all species, as well as a decrease in the variable impact of each species on the pigment composition (Chapter II). Regarding the water relations, it was found that the values of dry mass (DM) and the drying time of the stems of *A. araucana* species were higher than in mixed forest species. Along with this, in two of three species studied, the STM and WHC parameters were statistically higher in the *A. araucana* macrolichens than in the mixed forest species, indicating a greater area/weight ratio in the latter. Finally, a relationship between the thickness of the upper cortex, medulla and algal layer with water storage capacity were established when analyzing species together (Chapter III). In the chapter IV, three main groups have been established regarding the response of FN to high water contents. Fruticulose lichens and foliose lichens with cyphellae (*Sticta caulescens* and *Sticta ainoae*) showed greater tolerance of net photosynthesis to high water contents. The species with pseudocyphellae presented greater depression of photosynthesis as a result of high water contents. A heterogeneous behaviour was observed regarding the response to light in mixed forest species. However, adaptive tendencies were confirmed at low light intensities in some of the species in this forest with related to PC and PS light (i.e., *S. caulescens* and *P. nitida* presented compensatory points of 29 ± 2 and $40 \pm 3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, respectively). *A. araucana* species showed an adaptation to medium levels of light compared to Green et al., (1997). They presented more homogeneous response among them. While the gross values were highly correlated to PC and PS light, it was not statistically different from the species growing in evergreen forest (Chapter IV).

The quantitative and qualitative information about the ecophysiological response of conspicuous macrolichens present in the temperate rainforest of the south central Chile has been generated. Our results have highlighted the importance to maintain this protected environment due to the heterogeneity of microhabitats and forest structure that allows maintaining epiphytic communities adapted to shade and with high water requirements, which in a change of conditions could be harmed. According to the above, they also provide valuable information related to the possible response of these organisms to expected environmental changes of the region, showing a significant decline in the photosynthetic potential of temperate rainforest lichens that has allowed us to predict the vulnerability of the species in a stress scenario. In addition, the anatomical diversity of lichens suggests that future studies should carefully consider the structural properties to be able to differentiate strictly within a group, and to improve our understanding of the ecophysiological functioning of these lichens. These predominates the undergrowth of the temperate forests of southern Chile. It is also important to emphasize the importance of developing long-term ecophysiological studies that will allow us to know the response and adaptation of these organisms, especially vulnerable to possible environmental changes as demonstrated in this doctoral thesis.

CONCLUSIONS

In summary, the following general conclusions were extracted from the results.

- The diversity of species present in the evergreen forest varies horizontally among the studied phorophytes, bringing together the greatest diversity of macrolichens in *Nothofagus nitida* (inside the forest) (Chapter I).
- The distribution of cyanolichens and foliose lichens with cyphella is higher at the lower and more moist strata, while the higher distribution of chlorolichenes and indicator species is found in exposed areas in the upper stratum (Chapter I).
- Six of eight species studied showed a high sensitivity to a period of thirteen days of drying, including all species of cyanolichenes. However, *Sticta ainoae* and *Pseudocyphellaria divulsa* showed desiccation damage at 53 days of treatment (Chapter II).
- The decrease of F_v/F_m during the drying period along with an increase of F_0 suggests that water stress could be generating a rise in photoinhibition (Chapter II).
- Evergreen forest lichens show adaptations to low radiation. It was estimated by different parameters such as yield evolution, maximum ETR value and fluorescence light saturation point (Chapter II).
- Evergreen forest species and araucaria species showed a tendency to separate by DM, STM, WHC and dehydration time after saturation of species (Chapter III).
- As concerns the thickness of the thallus, two of three *A. araucana* species are significantly thicker than the mixed forest species, indicating that this may be an important adaptive parameter to the environment (Chapter III).
- The photosynthetic response to incorporate water and light in mixed forest species was more diverse than among *A. araucana* forest species, which turned out to be more dense (Chapter IV).
- The greatest time in optimal photosynthesis was presented in *A. araucana* forest species, indicating an adaptation to a greater environmental exposure. This is supported by higher values of net photosynthesis for these species from a quantitative point of view (Chapter IV).
- *S. ainoae* differed from the rest of the mixed forest species with more than two times the value of maximum FN. Also, a considerably higher period of activity was related to this vegetation unit, making it the most competitive species from physiological point of view (Chapter IV).

INTRODUCCIÓN GENERAL

CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA DE ESTUDIO

Chile posee una parte muy importante de los bosques templados del Hemisferio Sur. La importancia global de estos bosques radica en primer lugar en que representan casi un tercio de los bosques templados que quedan en el mundo relativamente inalterados (Bryant *et al.*, 1997) y en segundo lugar, estos bosques son de gran valor ecológico a nivel nacional como mundial, debido a su alto grado de endemismo y heterogeneidad (Neira *et al.*, 2002). Estas masas boscosas han estado aislados de otros bosques continentales desde mediados del Terciario, perdiéndose completamente la conexión con otros bosques sudamericanos durante todo el Pleistoceno (Villagrán & Hinojosa 1997). Una de las singularidades del aislamiento geográfico ocurre por el desarrollo de extensas formaciones áridas y semiáridas que forman parte de la denominada Diagonal Árida de Sudamérica y el levantamiento final de la Cordillera de los Andes (Villagrán & Hinojosa, 1997). El «efecto de barrera» de estos dos ambientes fue acentuado por las condiciones climáticas del Pleistoceno, que se caracterizaron por una intensificación de los ambientes áridos al norte de los 33° Sur y por el descenso del límite altitudinal de los bosques debido al enfriamiento glacial (Armesto, 1994).

Otra singularidad de los bosques de Chile es el carácter fitogeográfico mixto, así, muchos géneros del bosque chileno se distribuyen también en regiones distantes del globo, como los territorios Austral-Antárticos, Australasia y el Neotrópico, incluyendo además de una alta proporción de géneros endémicos (Villagrán & Hinojosa, 1997, Arroyo *et al.*, 1997; Villagrán & Hinojosa, 1997). En este sentido, la gran diversidad de familias representadas en estos bosques (49% de la flora vascular de Chile continental), en contraste con la pobreza en especies (7,8%), la elevada proporción de géneros aislados taxonómicamente (monotípicos 21 %), y el elevado porcentaje de especies endémicas (cerca del 90% de las plantas con semilla), sugieren antigüedad geológica del aislamiento de estos bosques y altas tasas de extinción de su flora (Villagrán & Hinojosa, 1997).

El análisis fitogeográfico a nivel de géneros muestra que el componente endémico de los bosques del sur de Sudamérica sigue siendo muy importante (32%), destacando además, significativas proporciones de elementos neotropical (28%) y australasiano (20%), dejando así de manifiesto las pasadas vinculaciones florísticas con distantes territorios, como Sudamérica tropical y Australasia (Villagrán & Hinojosa, 1997). Son clasificados como bosques templados debido a su ubicación geográfica fuera de los trópicos, y debido a que experimentan altas precipitaciones y bajas temperaturas en invierno. Este territorio es refugio de bosques singulares e impresionantes, entre ellos se encuentran los bosques de *Nothofagus* del centro y sur de Chile los que incluyen una variedad

de especies de importancia comercial para la producción de madera y fibra, así como también, legados botánicos endémicos como *Araucaria araucana* con árboles en pie de más de mil años (Aguilera-Betti *et al.*, 2017), y *Fitzroya cupressoides* especie que puede vivir sobre 3600 años, siendo la segunda especie más longeva del mundo superada tan sólo por *Pinus longaeva*, de California en EUA (Lara & Villalba, 1993). En Chile se distribuyen entre los 35 °S y 55 °S. Este tipo de bosque templado lluvioso representa alrededor de una cuarta parte del total mundial (Wilcox, 1996), otras regiones con bosques similares las encontramos en Tasmania, Nueva Zelanda y el noroeste del Pacífico en América del Norte.

Junto con esto, Chile presenta la segunda mayor extensión del mundo de bosques lluviosos templados costeros, después del ubicado en la costa noroeste del Pacífico que se extiende desde el norte de California hasta el sudeste de Alaska (Wilcox, 1996). Estos bosques se encuentran en una estrecha franja a lo largo de la costa desde la IX a XI Región y se caracterizan por abundantes lluvias a lo largo del año y por la ausencia de incendios naturales (Neira *et al.*, 2002). En particular, la distribución actual de la vegetación de la Cordillera de la Costa de Chile, menos afectada por cobertura de glaciares, exhibe una serie de rasgos fitogeográficos que testimonian su historia glacial. En consecuencia, estos bosques templados se restringieron a laderas protegidas de la Cordillera de la Costa, especialmente entre los 37° y los 40° Sur (Armesto, 1994). Por otra parte, a la Cordillera de la Costa se restringen una serie de taxa endémicos de Chile, generalmente monotípicos, los cuales son raros y con rangos distribucionales muy estrechos y discontinuos. Los ejemplos más destacados en plantas son el *Berberidopsis corallina* (michay rojo o voqui pilfuco), *Beilschmiedia berteriana* (belloto del sur), *Gomortega keule* (queule), *Pitavia punctata* (pitao), *Nothofagus alessandrii* (ruil), entre otras.

Particularmente la cordillera de la costa de la región de Los Ríos es uno de los lugares con alto valor para la conservación de la biodiversidad en Chile, reconocido por distintos autores (WWF, 2004; CONAMA 2005; Smith-Ramírez *et al.*, 2005; Ramírez & San Martín, 2005). Es considerada además, un ecosistema único y con importante concentración de especies endémicas como *Gricelinia jodinifolia*, *Valdivia gayana*, *Latua pubiflora*, *Lobelia bridgesii*, entre otros, todos con ancestros neotropicales y de estrecha distribución geográfica (Armesto *et al.*, 1997; Villagrán & Hinojosa, 1997; Ramírez & San Martín, 2005). Es una cordillera baja, con una altura promedio de 500 m que va descendiendo hacia el sur. Destacan en ella tres cumbres importantes: De norte a Sur: Cerro Oncol, al Norte del río Valdivia (720 m.s.n.m), Cerro Mirador en la Cordillera Pelada, al Norte del río Bueno (1.000 m.s.n.m) y el Cerro Metalqui en la Isla de Chiloé (800 m.s.n.m). El frío y la alta precipitación de estas cumbres permiten la sobrevivencia de avanzadas de la vegetación

de zonas más australes como por ejemplo, *Nothofagus nitida*. Sin embargo, a sotavento de las cumbres se forman sombras de lluvia, que posibilitan el desarrollo de especies vegetales propias de Chile central, como sucede en la cuenca inferior del río Bueno, donde prosperan algunas especies de bosques esclerófilos mixtos (Ramírez & San Martín, 2005) (Figura 1).

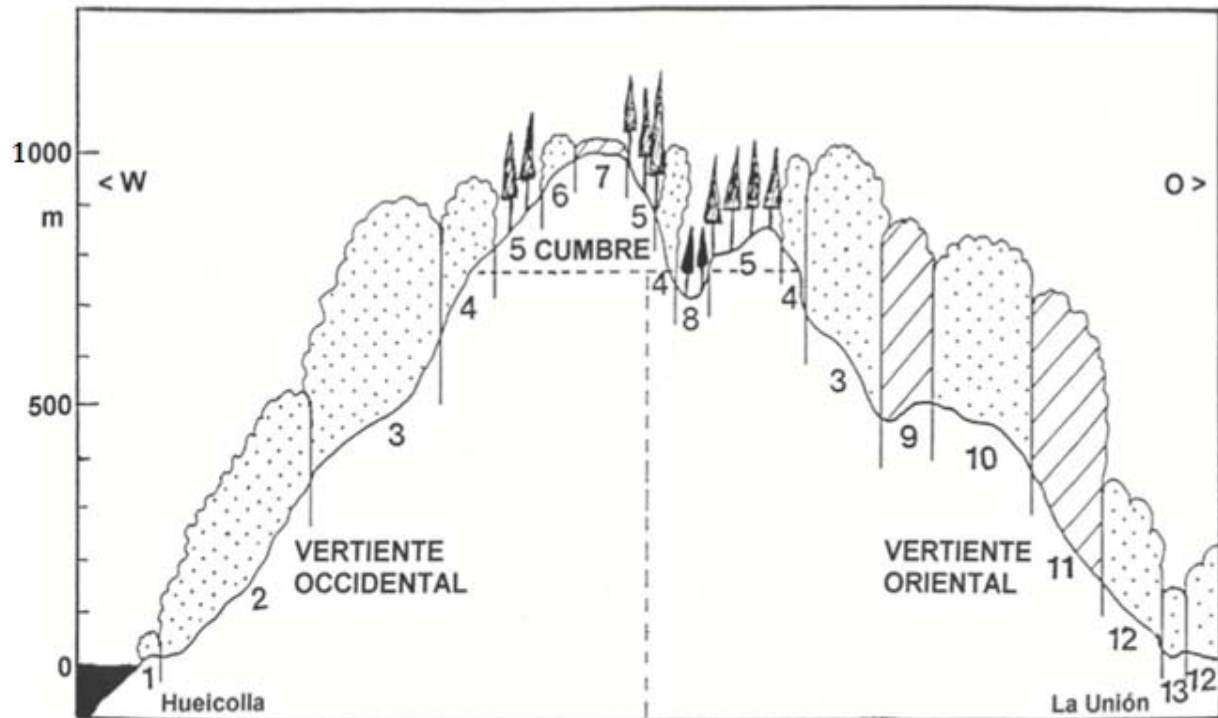


Figura 1. Distribución altitudinal de la vegetación en la Cordillera Pelada donde se encuentra el bosque de estudio (XIV Región, Chile). 1= Matorral costero de Patagua marina, 2= Bosque de Olivillo, 3= Bosque de Tepa-Tíneo, 4= Bosque Chilote, 5= Bosque de Alerce, 6= Bosque de Coihue de Magallanes, 7= Matorral de Chilca-Nirre, 8= Cipresal, 9= Bosque de Raulí, 10= Bosque de Coihue-Ulmo, 11= Bosque de Roble-Laurel-Lingue, 12= Bosque de Boldo, 13= Bosque pantanoso de Temo-Pitra. Punteado= bosques perennifolios, Achurado= bosques caducifolios. Tomado de Ramírez & San Martín, (2005).

Un aporte importante a la biodiversidad de los bosques costeros es una densa vegetación de epífitas, compuesta por musgos, líquenes, helechos y epífitas vasculares (Redon, 1979; Godoy *et al.*, 1981; Galloway, 1992-1994; Wedin, 1995; Lücking *et al.*, 2003; Villagrán *et al.*, 2005; Larraín, 2004; Smith-Ramírez, 2005), sustentadas por el régimen pluviométrico de la zona y el importante aporte de agua por interceptación de neblina (Woda *et al.*, 2006). Hasta la fecha los estudios de líquenes epífitos en bosques lluviosos del sur de Chile se limitan a listados de géneros y especies registradas en distintos bosques (Quilhot *et al.*, 2012; Rubio *et al.*, 2013). Específicamente, los

estudios sobre la diversidad de líquenes en bosques lluviosos de hoja perenne de la cordillera de la costa de la región valdiviana son aún más restringidos (Redon, 1979; Galloway, 1992-1994; Wedin; 1995; Lücking *et al.*, 2003) y no existe registro de avances en la respuesta ecofisiológica de estos organismos en la región. Todo esto justifica la realización de estudios más profundos de las comunidades de líquenes en bosques templados y evaluar su respuesta al medio.

ORGANISMOS DE ESTUDIO: LÍQUENES

Los líquenes son organismos simbiotes entre un componente fúngico heterótrofo (micobionte) principalmente de la división Ascomycota y en menor número a Basidiomycota, y otro componente fotosintético (fotobionte), que puede ser un alga verde (Chlorophyta) o una cianobacteria (Cyanophyta), o ambas (Grube & Hawksworth, 2007). Sin embargo, hay una gama considerable de asociaciones adicionales que ponen de manifiesto una complejidad mucho mayor en el que interviene incluso un tercer componente, una levadura de la división Basidiomycota, que ha sido detectada en el córtex de varias especies (Spribile *et al.*, 2016), así como comunidades bacterianas específicas (Cardinale *et al.*, 2006; Grube *et al.*, 2009) cuyo papel en el balance total de carbono aún no ha sido investigado.

El cuerpo vegetativo del liquen (talo) está constituido en su mayor parte por tejido fúngico (hifas) que rodean a las células algales. El fotobionte sintetiza los azúcares para el metabolismo a través de la fotosíntesis y proporciona la materia orgánica que es utilizada como alimento por el componente heterotrófico, independizando al liquen de fuentes externas de carbono orgánico (Nash, 2008). El micobionte proporciona soporte estructural favorable protegiéndolo de las radiaciones directas del sol y la desecación. En general, los líquenes se dividen en tres grupos morfológicos o biotipos: líquenes foliosos, fruticulosos y crustosos (Figura 2). Además se conocen tipos especiales, incluyendo morfologías de talos gelatinosas restringidas a algunos líquenes de cianobacterias (Büdel & Scheidegger, 2008; Figura 2). El cuerpo vegetativo del liquen (talo) está constituido en su mayor parte por tejido fúngico (hifas) que rodean a las células algales. En las primeras etapas los simbiotes establecen una masa celular enredada, desarrollando posteriormente el talo que está formado principalmente por micelios fúngicos y la mayoría de la biomasa está compuesta por el micobionte (Gilbert, 2000).

La mayoría de los líquenes desarrollan talos estratificados internamente (líquenes heterómeros; Figura 3), e involucra varias capas bien definidas: córtex superior, médula y córtex inferior. **Córtex superior**, puede ser de grosor variable (Büdel & Scheidegger, 2008), tiene múltiples funciones como protección contra la alta radiación, a la luz UV (Solhaug *et al.*, 2003),

entre otras (Büdel & Scheidegger, 2008). **Capa algal**, se ubica en la parte superior de la médula y recibe suficiente luz para que el fotobionte pueda fotosintetizar. Aunque las hifas de hongos rodean las células de algas, están ligeramente entrelazadas y dejan espacio suficiente para una intensidad óptima de la luz. **Médula**, está formada por hifas fúngicas laxamente entrelazadas, de aspecto algodonoso con alto espacio aéreo interno, facilitando el intercambio gaseoso dentro del talo (Honegger, 1993). En la mayoría de los casos, en las paredes hifales de la capa de algas como de la médula están incrustadas con sustancias liquénicas generalmente en forma de cristales. La médula es hidrófoba, de modo que incluso en las épocas de lluvia el interior del talo puede permanecer seco (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). En muchos casos los líquenes foliosos presentan un **córtex inferior**, este puede incluir rizinas el cual es un órgano apendicular de sujeción que consiste en la agrupación de paquetes de hifas (Barreno & Pérez-Ortega, 2003). La corteza inferior normalmente es pigmentada y puede absorber directamente el agua (Büdel & Scheidegger, 2008). Por otro lado se encuentran los líquenes homómeros, los cuales no presentan una organización tan estructurada y el alga está distribuida de forma más o menos homogénea por todo el talo.

Los líquenes presentan aspectos morfológicos, fisiológicos y ecológicos propios, bien definidos y distintos a los que presentan los simbiontes en forma independiente. Son organismos poiquilohídricos es decir, carecen de un mecanismo para regular el contenido hídrico (cutículas o capas protectoras), dependiendo directamente del medio que los rodea en los procesos de captación y pérdida de agua (Green *et al.*, 2011). Esta especialización les permite funcionar óptimamente bajo regímenes específicos de hidratación y mantener un balance positivo de carbono en una amplia variedad de condiciones ambientales (Lakatos *et al.*, 2006; Gauslaa & Coxson, 2011; Larsson *et al.*, 2012). Esta exitosa asociación simbiótica ha permitido dominar alrededor del 8% de la superficie terrestre (Larson, 1987) creciendo y soportando condiciones extremas tales como desiertos y regiones polares (Kappen, 2000; Kappen & Valladares, 2007; Raggio *et al.*, 2014) e incluso sobrevivir a la exposición en el espacio exterior (Sancho *et al.*, 2007; Raggio *et al.*, 2011).

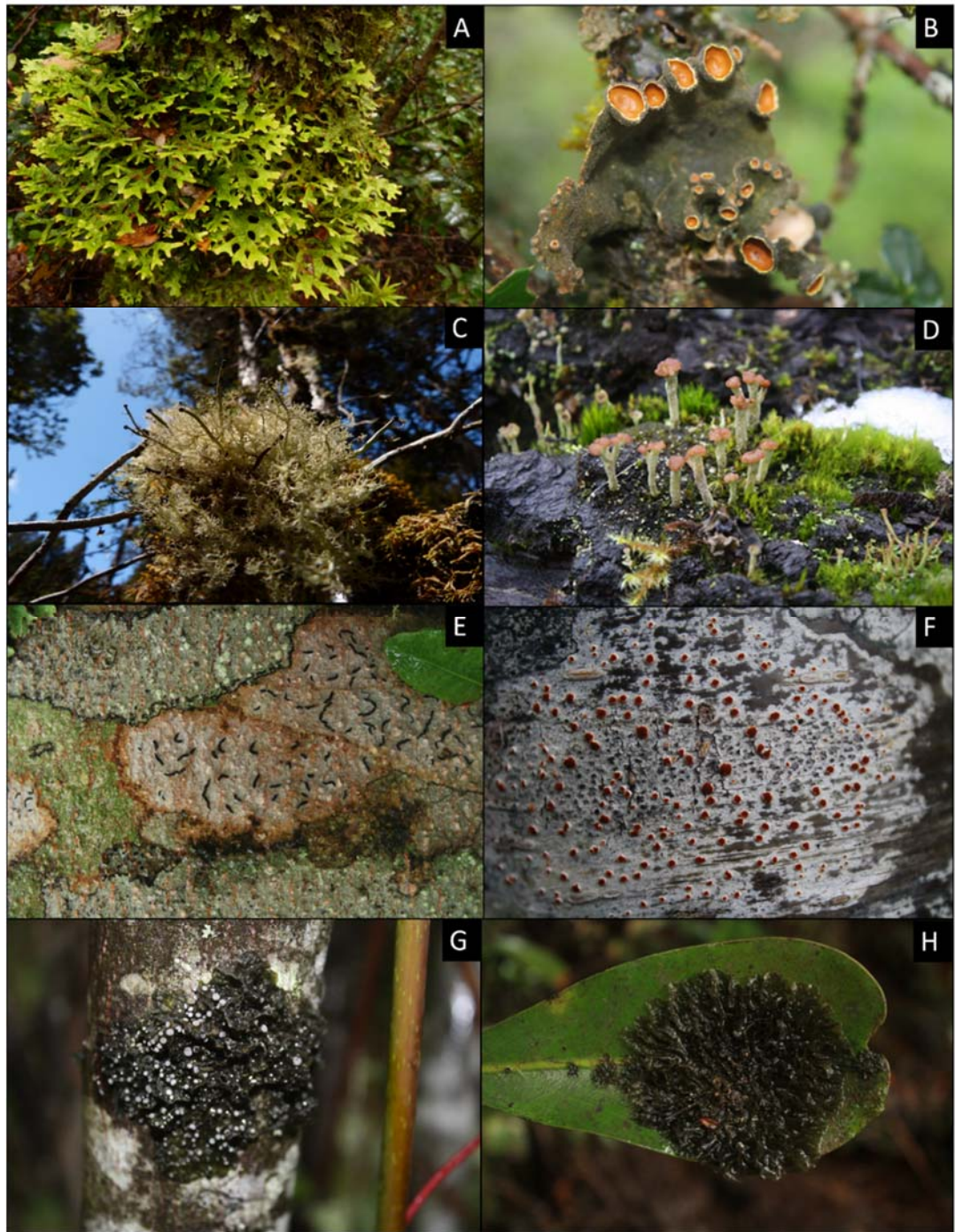


Figura 2: Biotipos. Líquenes foliosos (A-B)= talo laminar, en forma de hoja, generalmente estratificados, con organización dorsiventral y cara inferior diferenciada. Suele estar lobulado en los márgenes y es separable del sustrato. **Líquenes fruticulosos (C-D)**= talo en forma de pequeños arbustos. Sobresalen del sustrato y pueden ser erectos, colgantes, ascendentes o reptantes. Los lóbulos pueden ser cilíndricos o aplastados, en este caso a las cintas se les llama lacínias. **Líquenes crustosos (E-F)**= talos que se encuentran en estrecho contacto con el sustrato, carecen de córtex inferior o de órganos de sujeción y no se pueden separar de él sin destruirlos.

Líquenes gelatinosos (G-H)= talo homómero (no estratificado donde el fotobionte y micobionte están uniformemente distribuidos), de color oscuro pardo a negro; gelatinosos cuando se humedecen, los fotobiontes son siempre cianobacterias. (Barreno & Pérez-Ortega, 2003).

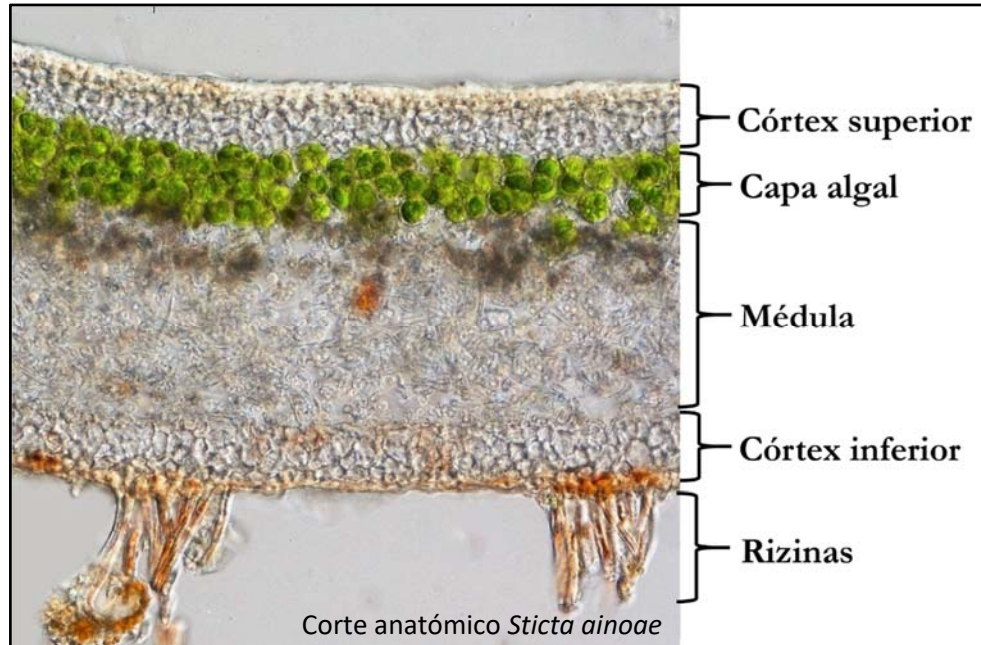


Figura 3. Corte anatómico transversal de un macrolíquen folioso indicando capas principales de líquenes foliosos córtex superior, capa algal, médula córtex inferior y rizinas.

LÍQUENES EPÍFITOS Y ASPECTOS ECOLÓGICOS

Los líquenes como organismo epífito, crecen sobre otras plantas y se especializan para vivir de forma no parasitaria sobre el sustrato proporcionado por estas (Barkman, 1958). Obtienen agua del aire o de lluvia, lo que probablemente incluye nutrientes recolectados de la corteza arrastrados por el fuste del árbol (Barkman, 1958). Muestran una estrecha especialización tanto a la especie hospedera, como a los microhábitats ofrecidos por esta, por ejemplo, variación de las relaciones hídricas a través del fuste, entre otras (Barkman, 1958; Cornelissen & Steege, 1989; Sillett & Rambo, 2000; Belinchón *et al.*, 2009; Aragón *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2014; Gauslaa, 2014; Li *et al.*, 2015).

Se ha comprobado que los líquenes son un grupo biológico importante de los ecosistemas forestales ya que contribuyen a la diversidad biológica forestal y a la conservación de esta (Kuusinen & Siitonen 1998; Pharo *et al.*, 1999; Quilhot *et al.*, 2010; Rubio *et al.*, 2013; Asplund & Wardle, 2016). Conjuntamente, se ha demostrado una estrecha relación entre la biomasa de líquenes y la abundancia de invertebrados de varios grupos que utilizan a estas epífitas como forraje, material de anidación o sitios de oviposición (Seyd & Seaward, 1984; Pettersson *et al.*, 1995; Gunnarsson *et al.*,

2004; Root *et al.*, 2007). También se ha demostrado que desempeñan un papel importante en el ciclo hidrológico del bosque ya que aumentan la intercepción de precipitaciones en el dosel, por tanto contribuyen a la humedad del interior del bosque (Oyarzun *et al.*, 2011; Van Stan & Pypker, 2015). Además de contribuir con nutrientes al bosque lluvioso mediante el ciclaje de minerales (Guzmán *et al.*, 1990; Knops *et al.*, 1996; Nash, 2008) y el enriquecimiento de nitrógeno (Asplund & Wardle, 2016) ya que aproximadamente el 10% de los líquenes fijan el N₂ atmosférico a través de su asociación con cianobacterias, proporcionando una entrada neta de nitrógeno al ecosistema forestal durante su descomposición (Green *et al.*, 1980; Antoine, 2004). Por otra parte, como organismo poiquilohídrico han sido utilizados como bioindicadores ya que resultan especialmente sensible a una amplia gama de factores ambientales (McCune, 2000; Hedenäs & Ericson, 2000; Goirdani *et al.*, 2014) que pueden dar lugar incluso a la desaparición de especies sensibles (Humphrey *et al.*, 2002; Paillet *et al.*, 2010).

Relaciones hídricas, anatomía y morfología

La actividad fisiológica en líquenes, incluida la ganancia de carbono depende y varía con el contenido hídrico del talo. El contenido hídrico puede variar desde el equilibrio con el aire (aproximadamente un 10% del peso seco) hasta la completa saturación (aproximadamente un 400% del peso seco en clorolíquenes y el 1000% en cianolíquenes; Vivas, 2013). Al incrementar el contenido hídrico, el proceso respiratorio es activado, y luego, en presencia de luz, se produce compensación fotosintética entre el 15-30% (%p/s) en clorolíquenes y en cianolíquenes entre el 100 -200% (%p/s) (Lange *et al.*, 1988). Una vez activado la fotosíntesis aumenta casi linealmente con la hidratación hasta que se alcanza una óptima absorción de CO₂, este punto se corresponde con el contenido hídrico óptimo del liquen. La máxima fotosíntesis ocurre entre 80-150% (%p/s) en clorolíquenes y entre 200-300 % (%p/s) en cianolíquenes (Lange *et al.*, 1988). Por lo tanto, la diversidad y biomasa cianolíquenes es alta en bosques de alta humedad, mientras que los clorolíquenes son más abundantes en ambientes con menor humedad (Sillet & Antoine 2004). Al ser poiquilohídricos dependen de las fuentes hídricas para su hidratación y activación, cuando las condiciones cambian de forma severa se secan e inactivan. Esta posibilidad de activar su metabolismo, entre otras, confiere la capacidad de ser organismos altamente tolerantes a la desecación, como por ejemplo, *Ramalina maciformis* la cual se reactiva luego de mantenerla 1 año al 1% de WC (Lange, 1969). Sin embargo, existen especies que se alejan de esta habitual y generalizada creencia de alta resistencia bajo condiciones de estrés hídrico y han demostrado ser altamente sensibles a la desecación, por ejemplo, líquenes epífitos que toleran sombra profunda (Lange *et al.*, 1994; Green *et al.*, 2011). Tal vez y como han indicado Green *et al.*, (2011) los líquenes como grupo

estén adaptados a cortos periodos de desecación que incluso pueden ser drásticos, pero no sobreviven si la desecación se prolonga en el tiempo. Esto podría reflejar su adaptación a hábitats con disponibilidad hídrica irregular pero no largos periodos de sequía.

Estos antecedentes apuntan a que los estudios fisiológicos sobre respuesta y tolerancia a desecación deben considerar las condiciones del hábitat a la hora de interpretar los resultados ya que todo indica que cada especie tiene una tolerancia adecuada a su ambiente particular (Green *et al.*, 2011). En este sentido, los líquenes han demostrado que la tolerancia a la desecación puede tener una respuesta dinámica y cambiar su sensibilidad estacionalmente, por ejemplo se ha encontrado que pueden adaptar sus tasas respiratorias en función de cambios estacionales de temperatura, esto significa que las tasas máximas de fijación neta de carbono son similares a lo largo del año y no se deprimen por pérdida de carbono en temporadas más cálidas, optimizando sus ganancias de carbono (Lange & Green, 2005). Junto con ello se ha observado que dependiendo de la disponibilidad de diferentes fuentes hídricas, los líquenes han desarrollado una serie de rasgos anatómicos y morfológicos que nos proporciona información relevante respecto a la eficacia de estos organismos con su entorno (Sancho & Kappen, 1989; MacKenzie & Campbell, 2001; Lakatos, 2011; Gauslaa, 2014). Snelgar & Green (1981) por ejemplo, confirmaron que la capacidad de almacenamiento de agua (en inglés, WHC *water-holding capacity*) es más alto en talos adaptados al sol que en talos adaptados a la sombra. Además, se ha indicado que han mejorado su economía hídrica mediante el aumento de su masa específica o masa seca por unidad de área (en inglés STM, *specific thallus mass*). Larson *et al.*, (2012) encontraron cambios de STM a través de las estaciones, interpretando estos resultados como una mejora de los procesos físicos del talo reflejados en la prolongación de la hidratación y su aumento en función de las demandas evaporativas (Gauslaa & Coxon, 2011; Merinero *et al.*, 2015). Debido a estas características una estructura arbórea perenne o caducifolia afectaran a la abundancia y diversidad de epífitos a través de factores como la captación de neblina, retención de más o menos humedad relativa del aire y aprovechamiento de precipitaciones (Woda *et al.*, 2006; Gauslaa, 2014).

Fotosíntesis

La fotosíntesis es un proceso mediante el cual organismos autótrofos utilizan la energía de la luz solar para sintetizar compuestos orgánicos. Resulta fundamental para el crecimiento y supervivencia de los organismos y responde continuamente a las condiciones ambientales como la radiación, temperatura, disponibilidad hídrica, entre otros. Estos factores tienen un efecto directo sobre el proceso fotosintético, por lo tanto, en cualquier momento la fotosíntesis está determinada por un factor ambiental (Lange *et al.*, 1988; Gauslaa & Solhaug, 2000; Lange & Green, 2005). Por

tanto, cualquier estudio que implique este proceso tendrá efectos sobre la comprensión de procesos globales que ocurren en la naturaleza y sus interrelaciones. Por ejemplo, mediante la fotosíntesis los líquenes fijan carbono atmosférico que posteriormente es liberado al suelo por lixiviación y descomposición, así estos organismos hacen una importante contribución en la mantención de la fertilidad en donde se desarrollan (Belnap & Lange, 2003). Por otra parte, nos ayuda a entender adaptaciones al entorno ya que en función de las condiciones ambientales el carbono puede ser utilizado para crecer ó para resistir a las condiciones ambientales (Colesie *et al.*, 2014; Merinero *et al.*, 2015). También nos permite monitorizar cambios ambientales, ya que si la disponibilidad hídrica, temperatura, luz cambian en un hábitat, la fotosíntesis se verá afectada, ya que todos esos factores ambientales influyen sobre ella (Gauslaa & Solhaug, 2000; Raggio *et al.*, 2014).

Las propiedades fotosintéticas de los líquenes proporcionan una relevante información sobre las adaptaciones a la luz de su entorno. Muchos líquenes están adaptados a ambientes de poca luz y alcanzan la saturación a 100-400 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Demmig-Adams *et al.*, 1990). Sin embargo, existen especies extremas que presentan puntos de saturación a los 20 o 1100 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Demmig-Adams *et al.*, 1990; Green *et al.*, 1991). El dosel de un bosque tiene una contribución directa en la fotosíntesis de las plantas ya que influye en su capacidad de absorber radiación incidente, por lo tanto, influye sobre el ambiente lumínico del sotobosque (Valladares, 2004). Lo anterior, permite la disyunción de nichos y la coexistencia de especies activas en distintos momentos ocupando distintos microhábitats del sotobosque (Li *et al.*, 2015). Por lo que en bosques abiertos o de estructura perenne el tipo de radiación determinará el funcionamiento de las especies que componen el sotobosque. Por ejemplo, en un bosque siempreverde la luz que llega al sotobosque es difusa y una fracción escasa pero funcionalmente valiosa de radiación directa es aportada por destellos de sol o *sunflecks*. Este tipo de radiación incrementa la productividad especialmente en doseles donde el follaje permita una mejor distribución de la radiación. Mientras que en bosques abiertos el sotobosque combina una sombra luminosa y la radiación directa que predomina en los claros, generándose un mosaico heterogéneo de ambos tipos de radiación (Valladares, 2004). Este tipo de radiación puede tener efectos perjudiciales y dar lugar a la fotoinhibición (daño e inactivación del fotosistema II o PSII cuando un organismo fotosintético recibe más luz de la que puede utilizar), especialmente cuando se suman actores limitantes de la fotosíntesis como la sequía o altas temperaturas (Valladares, 2006). Actualmente, se reconoce que la fotoinhibición a corto plazo parece reflejar mecanismos protectores, mientras que si el fenómeno se mantiene a largo plazo resulta daño real como consecuencia de un exceso de luz o un fallo de los mecanismos protectores (Taiz & Zeiger, 2006). La respuesta metabólica de los líquenes epífitos y en general de organismos con menor o mayor adaptación a bajos y altos niveles de radiación se

dividen en "plantas de sol" y "plantas de sombra" (Valladares, 2006). Se ha observado que los líquenes presentan suficiente plasticidad como para adaptarse a un amplio rango de regímenes de luz (Pintado *et al.*, 2005). Sin embargo se ha demostrado que las especies que se ha adaptado a lugares sombríos o muy soleados, la mayoría de las veces son incapaces de sobrevivir si las condiciones cambian (Green *et al.*, 1991). Líquenes adaptados a mayores radiaciones generalmente presentan mayores tasas de fotosíntesis neta a mayor densidad de flujo fotosintéticamente activa de fotones (PPFD) que las plantas de sombra (CITA). En tanto, líquenes adaptados a la sombra tienen menor punto de compensación y saturación de luz y menor tasa de respiración, por lo tanto, resultan más eficientes a bajas radiaciones. Por otra parte, las plantas de sol pueden adaptarse parcialmente a radiaciones más bajas dentro de un dosel y mostrar propiedades que tienden a las hojas de sombra. Sin embargo, las plantas de sombra a menudo resultan dañadas por el exceso de luz (CITA). Además se han encontrado diferencia en la concentración de clorofilas totales (Tretiach & Brown, 1995; Pintado *et al.*, 2005), siguiendo normalmente el patrón líquenes de sombra con mayor concentración de clorofilas totales y en los líquenes de sol mayor concentración de componentes del ciclo de las xantofilas (Paoli *et al.*, 2010).

El análisis detallado de los epígrafes desarrollados anteriormente constituye el núcleo de esta tesis doctoral. Como se ha comentado, la Cordillera de la Costa de la Región de los Ríos coincide dentro de los centro de mayor biodiversidad y endemismos del mundo (Myers *et al.*, 2000). Además de enmarcarse dentro de los 35 puntos calientes o "hotspots" mundiales de biodiversidad por la ONG Conservation International (Mittermeier *et al.*, 2011) y ha sido clasificada también como una de las zonas más amenazadas por la iniciativa Global 200 de WWF. Sin embargo, coincide con estas zonas (35° y 41° latitud Sur) la mayor transformación del paisaje debido a la sustitución del bosque nativo para uso agrícola y su reemplazo por plantaciones forestales de especies exóticas de los géneros *Eucalyptus* y *Pinus*. Esta gestión del hábitat acarrea una pérdida de biodiversidad debido a una alta destrucción por degradación y fragmentación del bosque nativo (Lara *et al.*, 1997). Cabe destacar que estas amenazas se podrían agravar si además consideramos un probable aumento de la temperatura (variable según el tipo de modelo utilizado) y una alteración de tanto la cantidad como la distribución de las precipitaciones en la zona (CEPAL, 2009; IPCC, 2014). El resultado de la combinación de ambos factores es una clara amenaza a los recursos hídricos, y en consecuencia a la vegetación natural de estos bosques, principalmente sobre aquellos organismos que para mantener su metabolismo activo necesitan disponibilidad de agua en el ambiente. El impacto de dichas modificaciones ambientales es susceptible de generar cambios en la distribución y abundancia de las especies (Johansson, 2008; Blondel *et al.*, 2010). En este sentido, y considerando los diversos rasgos biológicos y ecológicos de los líquenes, en la siguiente tesis

doctoral se plantea un estudio ecofisiológico que reporte la diversidad de especies de macrolíquenes en un bosque siempreverde de la Cordillera de la Costa Valdiviana dentro de un área natural protegida, su especificidad respecto a sus requerimientos ecológicos y su respuesta fotosintética frente a diversos parámetros ambientales.

OBJETIVOS Y ESTRUCTURA

El objetivo general de esta tesis doctoral fue generar información cuantitativa y cualitativa acerca de la presencia y respuesta ecofisiológica de macrolíquenes conspicuos presentes en un bosque siempreverde, mediante la evaluación integrada de:

- I. Factores ambientales que conducen a los patrones de diversidad y distribución de especies y,
- II. Patrones de respuestas fisiológicas al hábitat respecto al uso que estos organismos hacen del agua y la luz.

Los cuatro capítulos que estructuran la tesis doctoral abordan el estudio de los macrolíquenes epífitos de los bosques de la región centro-sur de Chile desde distintas perspectivas.

En primer lugar, los diferentes factores ambientales determinan la distribución de líquenes epífitos. Por lo que el primer objetivo fue conocer los requerimientos ambientales y ecológicos de macrolíquenes epífitos en tres especies arbóreas características de la cordillera de la costa valdiviana, evaluando los factores que afectan a su presencia y abundancia a escala local (bosque) y microhábitats (árbol).

En segundo lugar, la estratificación vertical de las condiciones microclimáticas ofrecidas por la especie hospedera sugieren adaptaciones a cortos periodos de desecación. Por tanto, el segundo objetivo fue evaluar la respuesta tanto a la desecación prolongada, como a diferentes niveles de radiación en especies con diferentes patrones de distribución en el bosque, pronosticando hasta cierto punto su respuesta frente a los cambios previstos por los modelos de cambio climático global.

El tercer capítulo aborda los vínculos entre relaciones hídricas y anatomía/morfología. Dependiendo de la disponibilidad hídrica, los líquenes han desarrollado una serie de rasgos anatómicos y morfológicos que influyen en el estado de hidratación. Por lo tanto, el funcionamiento de los líquenes podría variar en climas con contrastes. Así el tercer objetivo planteado fue contrastar rasgos de adaptación reflejados en la capacidad de retención de agua (WHC), masa específica del talo (STM) y anatomía interna de las especies en climas contrastados que puedan explicar la distribución de estos epífitos en los bosques templados del sur de Chile.

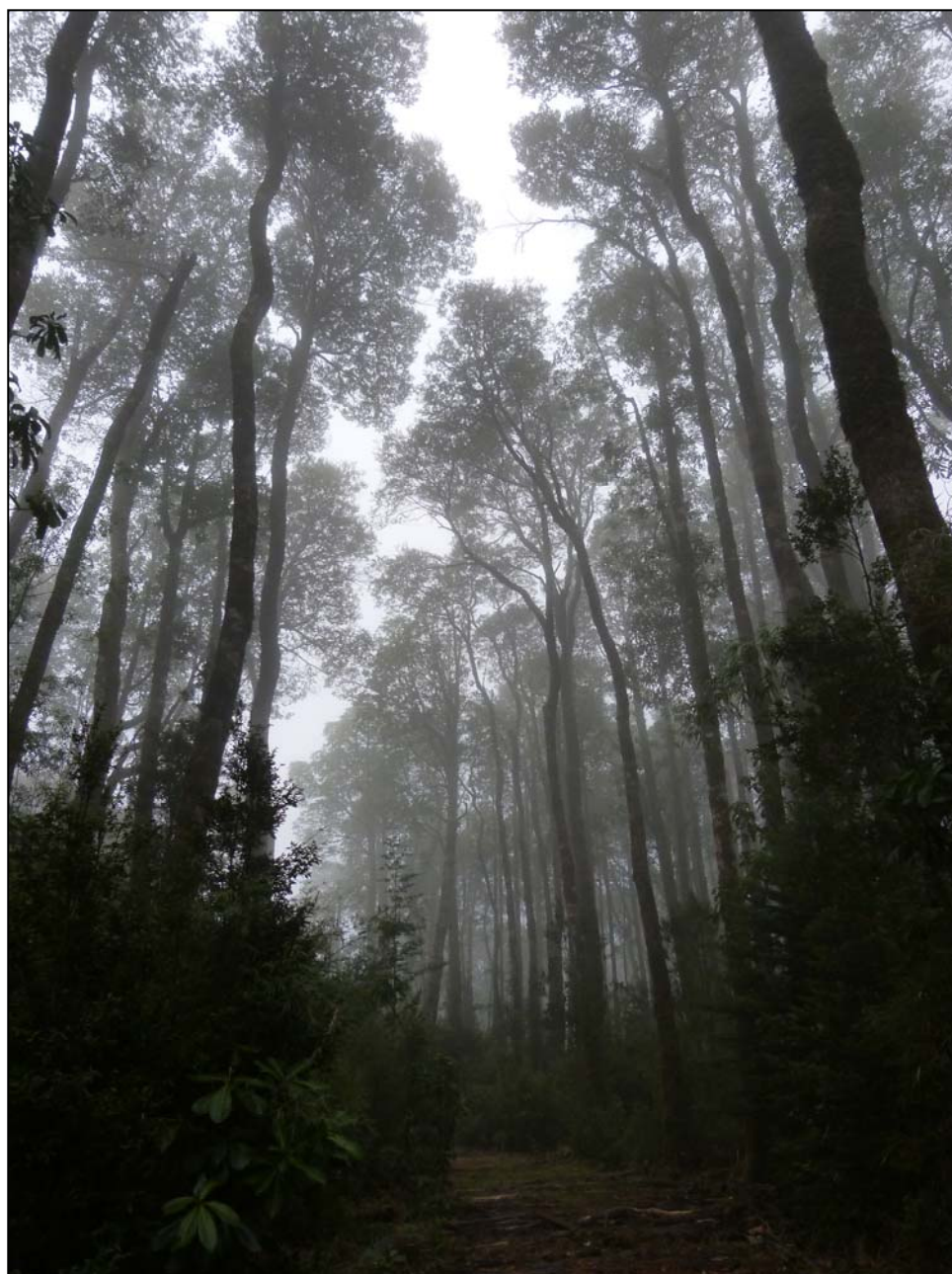
En último lugar, los líquenes epífitos viven en un ambiente forestal que atenúa los cambios bruscos de humedad, luz y temperatura que pueden suceder en zonas abiertas. Sin embargo, existen diferencias sustanciales entre el microclima de ambientes forestales contrastantes, que pueden dar

pistas para comprender su potencial fisiológico y para poder predecir su comportamiento en escenarios pronosticados por el cambio global. Por lo que el cuarto objetivo de esta tesis fue comparar la respuesta fisiológica y las estrategias adaptativas a través de intercambio gaseoso (relaciones hídricas y lumínicas) en condiciones de laboratorio de macrolíquenes procedentes de dos hábitats estructuralmente diferentes.

Estos objetivos desarrollados se pueden resumir en cuatro preguntas concretas:

1. ¿Varía la diversidad de especies a escala local y en función del microclima?
2. ¿Cuál es el límite de tolerancia frente a una simulación de cambio de las relaciones hídricas y frente al aumento de radiación?
3. ¿Explican los rasgos funcionales (STM y WHC) y anatómicos patrones de adaptación y /o preferencia de hábitats entre las diferentes especies?
4. ¿Refleja la respuesta fotosintética la preferencia de hábitat de las especies mediante los parámetros evaluados en este estudio?

DISTRIBUCIÓN HORIZONTAL Y VERTICAL DE MACROLÍQUENES EPÍFITOS EN UN BOSQUE SIEMPREVERDE DE LA CORDILLERA DE LA COSTA VALDIVIANA.



INTRODUCCIÓN

Los líquenes epífitos son un grupo de organismos importante en los ecosistemas forestales ya que contribuyen a la diversidad biológica del hábitat (Kuusinen & Siitonen, 1998; Pharo *et al.*, 1999; Pereira, 2007; Rubio *et al.*, 2013), así como también, a la conservación de esta. En este sentido, diversos estudios han demostrado una estrecha relación entre la biomasa de líquenes y la abundancia de invertebrados de varios grupos que utilizan a estas epífitas como forraje, material de anidación o sitios de oviposición (Seyd & Seaward, 1984; Petersson *et al.*, 1995; Gunnarsson *et al.*, 2004; Root *et al.*, 2007). Debido a que carecen de mecanismos que regulen el contenido hídrico, los líquenes dependen directamente del medio que los rodea en los procesos de captación y pérdida de agua (Green *et al.*, 2011). En consecuencia están adaptados tanto morfológicamente (Sancho & Kappen, 1989, Lakatos *et al.*, 2006) como fisiológicamente (Kappen *et al.*, 1979; Beckett, 1995) a cambios en su contenido hídrico por lo que son especialmente sensible a las condiciones climáticas (Goirdani *et al.*, 2014). Por ello, cambios en el clima local pueden dar lugar a modificaciones en la composición de las comunidades epífitas en el árbol hospedante (Rosabal *et al.*, 2012) o incluso a la desaparición de especies sensibles (Humphrey *et al.*, 2002; Paillet *et al.*, 2010) con la consiguiente disminución de la diversidad. En este sentido caracterizar la abundancia de líquenes, su preferencia por el árbol hospedante y gradiente vertical de distintas especies dentro de una misma unidad de vegetación local es adecuada para comprender los factores ambientales que conducen a los patrones de diversidad y distribución de las comunidades epífitas en bosques. El presente estudio constituye el primer trabajo centrado en la distribución y diversidad de líquenes epífitos en bosques templados siempreverdes de la cordillera de la costa valdiviana, caracterizado por su extraordinaria proporción de endemismos y antigüedad de relaciones biogeográficas (Armesto *et al.*, 1997; Villagrán & Hinojosa, 1997; Ramírez & San Martín, 2005).

Dentro del bosque, la diversidad y distribución de los líquenes epífitos responden a un gradiente horizontal y vertical sobre el árbol hospedante (Cornelissen & Steege, 1989; Sillett & Rambo, 2000; Ellis & Coppins, 2006; Li *et al.*, 2015). El gradiente horizontal se refiere a la relación entre el forófito (especies hospedantes donde se desarrollan) y las epífitas (Cornelissen & Steege, 1989), basados principalmente en variables como la naturaleza de la corteza (Barkman, 1958; Pereira *et al.*, 2014), edad del hospedante o cobertura del dosel arbóreo (Ranius *et al.*, 2008; Belinchón *et al.*, 2009, Aragón *et al.*, 2010). El gradiente vertical se refiere al gradiente de microambientes que ofrece el árbol hospedante con la altura, influenciado por las distintas condiciones microclimáticas (Ellis, 2012). Factores como la temperatura, intensidad de luz y

velocidad del viento aumentan con la altura de hospedante (Li *et al.*, 2013) y de forma inversa, disminuyen la humedad y la disponibilidad de nutrientes (Barkman, 1958; Meinzer & Goldstein, 1996).

Diferentes estudios han demostrado que los grupos funcionales son valiosos indicadores de la biodiversidad y de la función en el ecosistema (Wolf *et al.*, 2000), más aún se conoce que presentan preferencias específicas a través del gradiente vertical y horizontal (Barkman, 1958; Cornelissen & Steege, 1989; McCune, 1993). Por ejemplo, se ha demostrado que los cianolíquenes están asociados a microambientes más sombríos en la base de los árboles maduros, donde la humedad relativa es más alta. Esta preferencia reflejaría la sensibilidad de este grupo frente a la desecación y en consecuencia podrían usarse como bioindicadores frente a alteraciones como fragmentación del hábitat (Barkman, 1953; Ellis & Coppins, 2006). En cambio los líquenes fruticulosos están restringidos habitualmente a las zonas más altas del árbol hospedante o en bosques abiertos debido a su mayor tolerancia a una mayor intensidad de luz (Barkman, 1958; Campbell & Coxson, 2001; Rambo, 2010). Sin embargo, también se ha comprobado que la abundancia de este grupo es afectada negativamente por la fragmentación del hábitat en bosques adultos, influenciada principalmente por modificación del microclima (viento y humedad) y la disponibilidad de sustrato hacia la proximidad al borde del bosque (Esseen, 2006).

La mayoría de los estudios relativos a la distribución horizontal y vertical de líquenes epífitos se han llevado a cabo principalmente en los bosques tropicales (Cornelissen & Steege, 1989; Komposch & Hafellner, 2000; Normann *et al.*, 2010), bosques templados (Ellyson & Sillett, 2003; McCune *et al.*, 1997; Sillett & Rambo, 2000; Williams & Sillett, 2007) y bosques boreales (Campbell & Coxson, 2001; Hilmo *et al.*, 2013; Färber *et al.*, 2014). En los bosques templados de Chile los antecedentes acerca de la flora líquénica epífita, indican que constituyen a menudo uno de los principales elementos que contribuyen a la biodiversidad de la flora local (Redon, 1979; Bustamante *et al.*, 1989; Galloway, 1997; Pereira *et al.*, 2007; Quilhot *et al.*, 2010; Quilhot *et al.*, 2012). Sin embargo, pocas investigaciones en la región han abordado los procesos ecológicos que controlan su diversidad por ejemplo, exposición topográfica y altura sobre el forófito; pH de la corteza, y condiciones ambientales como humedad y luminosidad (Bustamante *et al.*, 1989; Pereira *et al.*, 2014; Atala *et al.*, 2014).

El objetivo principal de este capítulo es relacionar la abundancia y distribución de las especies de macrolíquenes epífitos con los microhábitats ofrecidos por diferentes árboles hospedantes en el interior de un bosque siempreverde de la cordillera costera de la región valdiviana.

Para ello consideraremos los siguientes objetivos específicos:

- I. Identificar la riqueza y abundancia relativa de macrolíquenes epífitos en tres especies arbóreas características locales de la cordillera de la costa valdiviana.
- II. Evaluar la distribución de las especies de macrolíquenes y de los grupos funcionales a lo largo de un gradiente vertical.
- III. Analizar condiciones microclimáticas tales como, humedad, temperatura y déficit hídrico asociadas al gradiente vertical.
- IV. Estudiar el ensamblaje de especies en comunidades a lo largo del gradiente horizontal y vertical.
- V. Relacionar la distribución de los macrolíquenes con factores ambientales microclimáticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Los ejemplares fueron colectados en un bosque siempreverde del tipo forestal Laurelio-Weinmannietum (Oberdorfer, 1960) (de aquí en adelante llamado bosque mixto) dentro del Parque Nacional Alerce Costero (40° 00' S/73° 25'O, 600 m de altitud), Región de los Ríos, Chile (Figura 1 y 2). El estrato arbóreo superior alcanza los 25 metros de altura, en su interior presenta baja intensidad de luz y está cargado de una densa biomasa foliar de epífitas y trepadoras (Woda *et al.*, 2006). El clima del área es definido como mesotemplado hiperhúmedo (Luebert & Pliscoff, 2006). La temperatura media anual es 10 °C, el mes más cálido es enero con 17,2 °C, y el más frío julio, con 7,6 °C (Di Castri & Hajek, 1976; Errázuriz *et al.*, 1998). Presenta una precipitación media anual de 2130 mm, registrándose máximas de 4000 y 5000 mm por año (Veblen *et al.*, 1996; Oyarzún *et al.*, 1998) y excepcionalmente en el año 2000 precipitaciones cercanas a los 7.000 mm (Woda *et al.*, 2006). En los meses de verano se registran 64,6 mm (enero) y 68,9 mm (febrero) en promedio, lo que no permite hablar de una estación estival seca en este tipo de clima (Errázuriz *et al.*, 1998). Sin embargo, periodos de sequía estival han sido mencionados en este punto de la cordillera de la costa por Woda *et al.*, (2006) quienes registraron en el año 2000 que solo un 9% (630 mm) de la precipitación total se registró en los meses de verano. El suelo es de origen metamórfico derivado de rocas micaesquísticas (Serie Hueicolla), franco limoso de color pardo amarillento y susceptibles a erosión (CIREN, 2003).

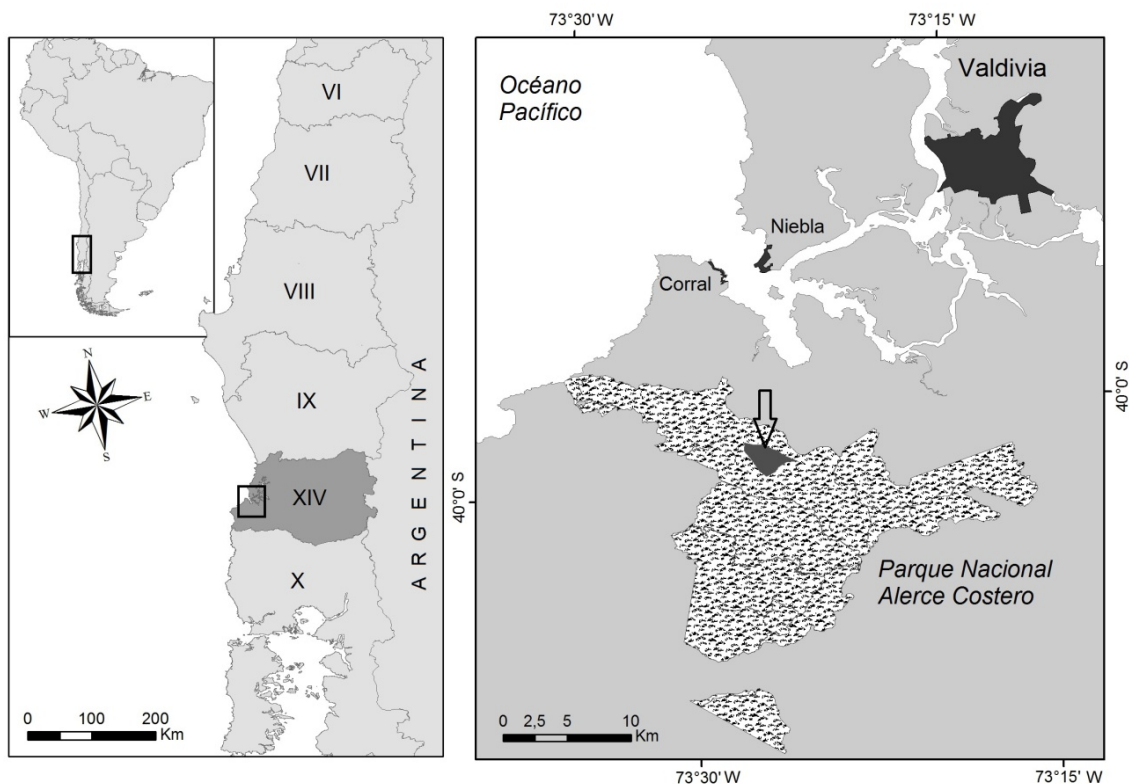


Figura 1. Localización del área de estudio en el Parque Nacional Alerce Costero (Región de los Ríos, Chile).

Selección de especies hospederas y censos de la flora liquénica

Se seleccionaron 3 especies arbóreas de acuerdo con la representatividad en el área de estudio. Estas fueron *Nothofagus nitida* (coigüe de Chiloé), *Saxegothaea conspicua* (mañío hembra) y *Drimys winteri* (canelo). En la zona más central y sombría de la parcela se sitúan preferentemente *N. nitida* y *S. conspicua*, mientras que *D. winteri* está localizado en las zonas más expuestas y cercanas al borde del bosque.

Con la finalidad de conocer el número mínimo de forófitos que se requiere muestrear para obtener la máxima representación de especies de líquenes, se confeccionó una curva área/especie (Colwell *et al.*, 2004). Así, obtuvimos una parcela de 150 m², dentro de los cuales se seleccionaron aleatoriamente 15 árboles de cada especie dominante. Los censos se realizaron en agosto del año 2014. Se aplicó directamente sobre el tronco un cuadrante metálico de 20 x 50 cm subdividido en 10 subcuadrantes de 10 x 10 en los cuales se evaluó la cobertura. Se realizaron dos censos (con orientación aleatoria) por individuos a distintas alturas del fuste basándonos en McCune (1993) y Li *et al.*, (2015).

Los censos realizados desde el nivel del suelo hasta 0,5 metros de altura fueron catalogados como estrato inferior y los censos realizados desde 0,5 hasta 1,80 metros de altura fueron denominados estrato superior. La flora líquénica presente en este estudio sigue el orden de la lista patrón de los líquenes y hongos liquenícolas de Chile (Galloway & Quilhot, 1998). La identificación de las especies se realizó en base a Galloway (1992a, 1992b, 1994), Wedin (1995), Parmasto (1978) y White & James (1988). Para confirmar la nomenclatura se utilizó el *Index Fungorum* (<http://www.indexfungorum.org/>).



Figura 2. Bosque mixto. A: dosel arbóreo; B: sotobosque; C: cobertura de epífitos.

Se estimó el índice de diversidad de Shannon (H'). Este índice asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra (Magurran, 2004).

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \log p_i$$

Donde p_i es la relación entre n_i/N . n_i es el número de individuos de la especie i y N es el número total de individuos de la muestra.

Para estimar la similitud entre la composición de especies entre comunidades hemos utilizado el índice de Sørensen. Este índice relaciona el número de especies compartidas con la media aritmética de las especies de ambos sitios (Magurran, 2004).

$$S_s = \frac{2a}{2a+b+c}$$

Donde a es el n° de especies presentes en la muestra A y B (juntas); b: n° de especies presentes en la muestra B pero no en A, y c: n° de especies en la muestra A pero no en B.

Análisis de conglomerados

Con el objetivo de evaluar el ensamblaje de especies de macrolíquenes presentes en las tres especies arbóreas realizamos un análisis de conglomerados (clúster). Esta técnica multivariante organiza las entidades de muestreo en grupos o clases discretas. En nuestro análisis se utilizó la distancia de la cuerda para el cálculo de la distancia entre cada inventario dentro de la matriz de semejanzas. Los censos fueron agrupados mediante encadenamiento promedio (UPGMA). Este análisis de clasificación fue llevado a cabo mediante el programa SYN-TAX 2000 (Podani, 2000).

Grupos funcionales

Las especies se han dividido en 6 grupos funcionales de acuerdo con McCune (1993) y Li *et al.*, (2015). FPA: líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados. FPE: líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados. FOC: líquenes foliosos con cifelas. FRT: líquenes fruticulosos. FOL: líquenes foliosos sin cifelas ni pseudocifelas. CIL: cianolíquenes.

Evaluación del microclima

Se instalaron 12 sensores de humedad y temperatura (iButton® temperature/humidity logger model DS1923) los cuales registran de forma automática datos cada 4 horas. Debido a la dificultad de acceso al área de estudio se han monitorizado y recogido datos durante seis meses coincidiendo con la primavera y verano austral (5 de septiembre del 2014 hasta el 18 de febrero del 2015). Este periodo coincide con el mayor estrés hídrico para las epífitas. Los sensores fueron fijados directamente al fuste de 6 árboles y distribuidos homogéneamente en las 3 especies arbóreas. La mitad de ellos fueron montados sobre un estrato inferior y el resto sobre un estrato superior. Sin embargo, por problemas técnicos se descartaron por completo los datos de dos sensores fijados en *D. winteri*. Por lo que el análisis de los datos corresponden a 4 sensores en

N. nitida, 4 sensores en *S. conspicua* y 2 sensores en *D. winteri*. Los parámetros relativos a temperatura se han expresado en grados Celsius (°C) y los parámetros relativos a humedad relativa se han expresado en porcentaje (%).

A partir de los datos obtenidos de humedad y temperatura se estimó el déficit hídrico. Primero se calculó la presión de vapor de saturación (PVS) (Murray, 1967) mediante la ecuación $[PVS \text{ (Pascals)} = 610,7 \cdot 10^{7,5T/(237,3+T)}]$. Desde aquí se pudo calcular el parámetro, denominado Déficit de Presión de Vapor, mediante la ecuación $[DPV \text{ (Pascals)} = (1 - (RH/100) \cdot PVS)]$. Este parámetro es una medida del poder de secado del aire y tiene gran significancia biológica (Barkman, 1958).



Figura 3. Imagen de un sensor de temperatura y humedad iButton® A. montado sobre su soporte, B. montado entre los talos en el estrato inferior (0-0,5 metros del suelo), y C. montado en el estrato superior (entre 0,5-1,8 metros del suelo) para la caracterización microclimática de macrolíquenes del bosque mixto (septiembre 2014 - febrero 2015).

Análisis estadístico

Antes de los análisis todos los datos fueron comprobados con la prueba de normalidad y de homogeneidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homogeneidad Levene, respectivamente. Para

satisfacer los supuestos de normalidad aplicamos raíz cuadrada para la transformación de los datos. Posteriormente realizamos un test ANOVA de un factor seguido del análisis a *posteriori* de Tukey. Cuando algunos de estos supuestos aún con la transformación no se cumplía, aplicamos el test no paramétrico de Kruskal Wallis seguido por el análisis a *posteriori* Tukey. Los análisis del microclima fueron evaluados mediante la prueba Prueba de Mann-Whitney (Wilcoxon) para establecer diferencias entre los distintos niveles analizados. El paquete estadístico utilizado en estos análisis fue el programa *Statsgraphic* versión 5.1. Para el ajuste de curvas y nube de puntos se utilizó el programa *Sigmaplot* 11.0.

RESULTADOS

Composición, diversidad y distribución espacial de las especies de macrolíquenes

La curva área/especie indica que a partir del ejemplar número cinco las tres especies arbóreas alcanzaron la estabilidad de la curva (Figura 3), infiriendo con ello que la riqueza de especies fue censada completamente hasta 1,8 metros de altura.

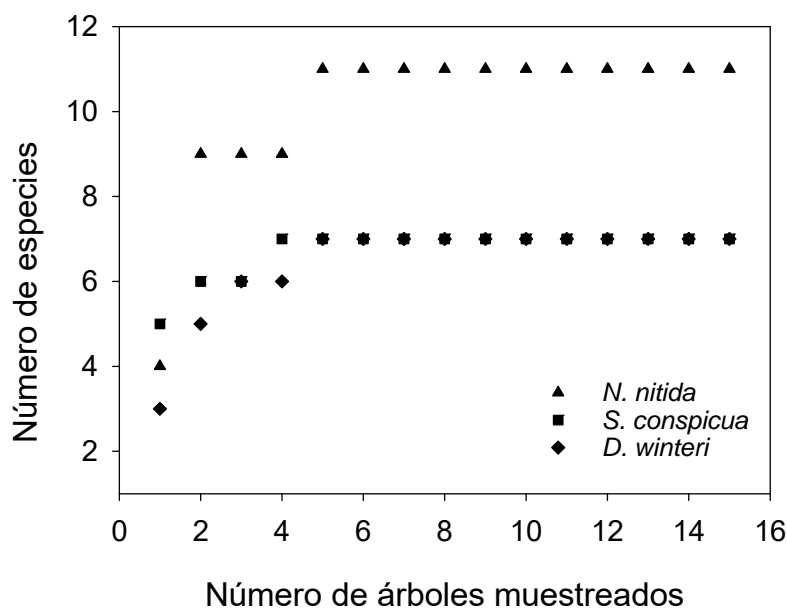


Figura 3. Curva área/especie o curva de acumulación de especies de macrolíquenes epífitos en tres especies arbóreas del bosque mixto (*Nothofagus nitida*, *Saxegothaea conspicua* y *Drimys winteri*).

El análisis taxonómico de las especies de macrolíquenes encontradas reveló la existencia de 6 familias, 8 géneros y 14 especies destacando principalmente el género *Pseudocyphellaria* con el mayor número de especies en las tres especies arbóreas (Tabla 1).

Tabla 1. Listado de especies, grupo funcional y porcentaje de cobertura relativa (CR) de las especies representadas por especie arbórea presentes en el área de estudio. NN: *Nothofagus nitida*, SC: *Saxegothaea conspicua* y DW: *Drimys winteri*. Donde, líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados (FPA), líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados (FPE), cianolíquenes (CIL), líquenes foliosos con cifela (FOC), líquenes fruticulosos (FRT) y líquenes foliosos sin cifelas ni pseudocifelas (FOL).

División	Familia	Especies de macrolíquenes	Grupo funcional	CR Especie arbórea		
				NN	SC	DW
Ascomycota	Coccotremataceae	<i>Lepolichen coccophorus</i> (Mont.) Trevis.	FOL			2,8
	Collemataceae	<i>Collema laeve</i> Hook. F & Taylor.	CIL	1,3		
	Lobariaceae	<i>Pseudocyphellaria berberina</i> (G. Forst.) D.J. Galloway & P. James.	FPA	7,2	22,0	48,0
		<i>Pseudocyphellaria coerulescens</i> (Mont.) D.J. Galloway & P. James.	CIL		5,3	8,7
		<i>Pseudocyphellaria divulsa</i> (Taylor) Imshaug.	FPE	20,4	27,6	6,9
		<i>Pseudocyphellaria nitida</i> (Taylor) Malme.	FPA	17,8	31,5	25,9
		<i>Sticta ainoae</i> D. J. Galloway & J. Pickering.	FOC	34,3		
		<i>Sticta caulescens</i> De Not.	CIL	3,9	0,8	
		<i>Sticta hypochra</i> Vain.	CIL	1,5		
	Parmeliaceae	<i>Platismatia glauca</i> (L.) Club & Club.	FOL			5,6
	Sphaerophoraceae	<i>Bunodophoron australe</i> (Laurer) A. Massal.	FRT	4,6	5,3	
		<i>Bunodophoron ramuliferum</i> (I.M. Lamb) Wedin.	FRT	1,5		
		<i>Leifidium tenerum</i> (Laurer) Wedin.	FRT	6,1	7,5	2,2
Basidiomycota	Atheliaceae	<i>Dictyonema glabratum</i> (Spreng.) D. Hawksw.	CIL	1,3		

La familia Lobariaceae es el grupo más representado en cuanto a la cobertura total en las tres especies arbóreas, alcanzando el 85,2% en *Nothofagus nitida*, el 87,2% en *Saxegothaea conspicua* y el 89,4% en *Drimys winteri* (Tabla 1). En *N. nitida* se censaron cinco especies exclusivas (*Collema laeve*, *Sticta ainoae*, *Sticta hypochra*, *Bunodophoron ramuliferum* y *Dictyonema glabratum*; Tabla 1). En *D. winteri* se registraron dos especies exclusivas, ambas censadas solo en el estrato superior de esta especie arbórea (*Lepolichen coccophorus* y *Platismatia glauca*; Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de Cobertura relativa (CR) de las especies de macrolíquenes representada por especie arbórea y dos estratos analizados. Estrato inferior (0-0,5 metros del suelo); estrato superior (0,5-1,8 metros del suelo).

Especies de macrolíquenes	Especies arbóreas		
	<i>Nothofagus nitida</i>	<i>Saxegothaea conspicua</i>	<i>Drimys winteri</i>
% CR estrato inferior			
<i>Sticta ainoae</i>	63,52 ± 4,87		
<i>Sticta hypochra</i>	2,87 ± 2,39		
<i>Collema laeve</i>	2,87 ± 4,41		
<i>Sticta caulescens</i>	7,38 ± 0,76	2,04 ± 2,50	
<i>Pseudocyphellaria divulsa</i>	14,75 ± 6,00	44,22 ± 2,90	20,37 ± 2,50
<i>Pseudocyphellaria nitida</i>	8,61 ± 3,15	29,93 ± 5,20	30,56 ± 11,68
<i>Pseudocyphellaria berberina</i>		23,81 ± 5,67	49,07 ± 4,29
% CR estrato superior			
<i>Bunodophoron ramuliferum</i>	2,74 ± 5,00		
<i>Sticta ainoae</i>	1,37 ± 2,50		
<i>Collema laeve</i>	2,74 ± 2,89		
<i>Dictyonema glabratum</i>	1,37 ± 0,00		
<i>Bunodophoron australe</i>	9,59 ± 2,81	8,96 ± 4,00	
<i>Pseudocyphellaria divulsa</i>	26,48 ± 6,05	16,04 ± 5,95	
<i>Pseudocyphellaria nitida</i>	27,85 ± 4,91	32,55 ± 3,26	23,47 ± 3,98
<i>Pseudocyphellaria berberina</i>	15,07 ± 4,59	20,75 ± 3,90	47,42 ± 3,50
<i>Leifidium tenerum</i>	12,79 ± 4,63	12,74 ± 6,63	3,29 ± 2,50
<i>Pseudocyphellaria coerulescens</i>		8,96 ± 4,41	13,15 ± 7,68
<i>Lepolichen coccophorus</i>			4,23 ± 3,75
<i>Platismatia glauca</i>			8,45 ± 7,64

El mayor número de líquenes se registró en *Nothofagus nitida* (NN), diferenciándose estadísticamente de *Saxegothaea conspicua* y *Drimys winteri* (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks; $p<0,001$; $H=30,895$; g.l=2; Figura 4A). En cuanto a la cobertura no se registraron diferencias significativas entre las distintas especies arbóreas ($p=0,21$, ANOVA, $\alpha=0,05$). A nivel de estratos, el mayor número de especies se registró en el estrato superior de las tres especies arbóreas. Sin embargo, las diferencias fueron significativas solo entre el estrato superior e inferior de *Drimys winteri* (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks; $p<0,001$; $H=46,7$; g.l=5; Figura 4B). En cuanto a la cobertura (por estratos) no se registraron diferencias significativas (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks; $p=0,29$; $H=7,13$; g.l=5), sin embargo, destacó la alta cobertura de *Sticta ainoae* en el estrato inferior de *N. nitida* (NN inf; Tabla 2).

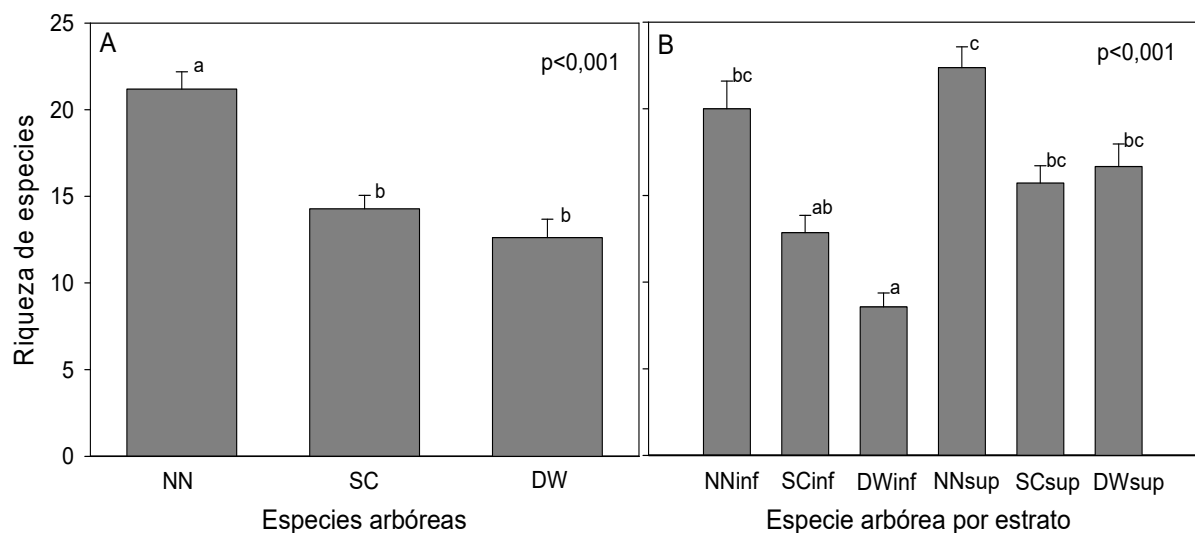


Figura 4. A. Riqueza de especies de líquenes epífitos de tres especies arbóreas del bosque mixto, y B. riqueza de especies evaluadas en dos estratos del fuste. Estrato inferior (inf. 0-0,5 metros del suelo) y estrato superior (sup. 0,5-1,8 metros del suelo). NN: *Nothofagus nitida*, SC: *Saxegothaea conspicua* y DW: *Drimys winteri*. Letras diferentes indican diferencias significativas para $p<0,05$, según Kruskal Wallis seguido de test post-hoc Tukey.

El índice de diversidad de Shannon indica que la especie arbórea con mayor diversidad es *Nothofagus nitida*, seguida de *Saxegothaea conspicua* y *Drimys winteri* (Tabla 3). En cuanto a los estratos, todas las especies arbóreas presentaron el valor más alto de este índice en el estrato superior. *N. nitida* presentó la mayor diversidad de especies en ambos estratos.

Tabla 3. Índice de diversidad de Shannon (H') de macrolíquenes epífitos por especie arbórea (*Nothofagus nitida*; *Saxegothaea conspicua*; *Drimys winteri*) y por estrato. Estrato inferior (0-0,5 metros del suelo); estrato superior (0,5-1,8 metros del suelo).

Especie arbórea	H'	H' Estrato	
		inferior	superior
<i>Nothofagus nitida</i>	2,2	1,6	2,0
<i>Saxegothaea conspicua</i>	1,7	1,3	1,7
<i>Drimys winteri</i>	1,6	1,0	1,6

El índice de Sørensen por especie arbórea y estrato indica que *N. nitida* y *S. conspicua* presentan el mayor valor de similitud, seguida por la combinación *S. conspicua* y *D. winteri* (Tabla 4). La mayor disimilitud entre las especies arbóreas y estratos se registró entre *N. nitida* y *D. winteri* en el estrato superior. La mayor similitud a nivel de estrato la presentan las especies arbóreas *S. conspicua* y *D. winteri* en el estrato inferior.

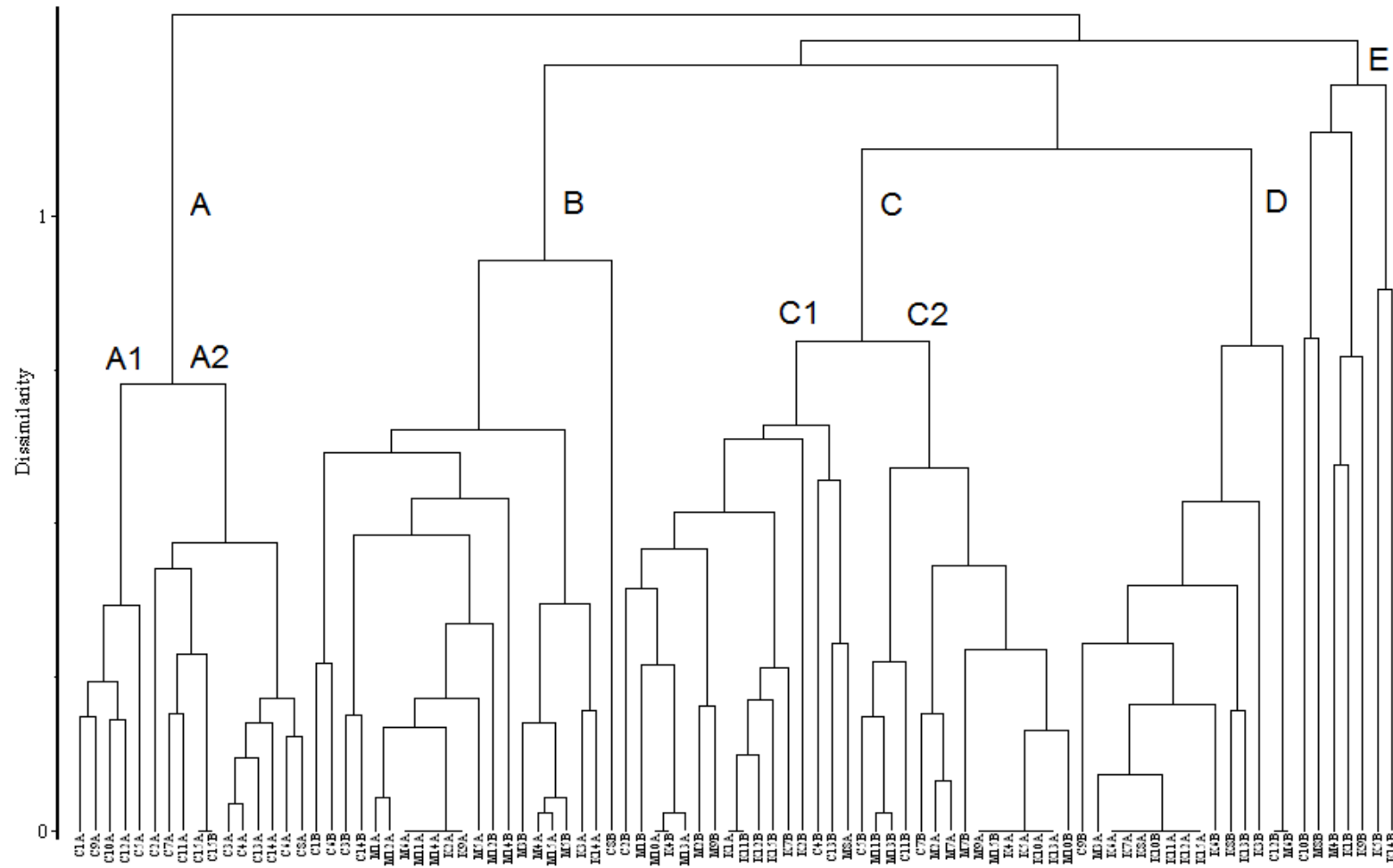
Tabla 4. Índice de diversidad de Sørensen (SS) de macrolíquenes epífitos por especie arbórea (*Nothofagus nitida*; *Saxegothaea conspicua*; *Drimys winteri*) y por estrato. Estrato inferior (0-0,5 metros del suelo); estrato superior (0,5-1,8 metros del suelo).

Especie arbórea	SS	SS Estrato	
		inferior	superior
<i>Nothofagus nitida</i>	0,67	0,69	0,67
<i>Saxegothaea conspicua</i>			
<i>Saxegothaea conspicua</i>	0,57	0,90	0,67
<i>Drimys winteri</i>			
<i>Nothofagus nitida</i>	0,44	0,44	0,40
<i>Drimys winteri</i>			

Ensamblaje de especies

El análisis de clasificación muestra cinco unidades principales, a partir de aquí nombrados como clúster A-B-C-D-E (Figura 5; Anexo 1). Clúster “A”. “Comunidad *Sticta caulescens-Sticta ainoae*”. Formado por 16 censos de vegetación. Incluye todos los censos del estrato inferior de *Nothofagus nitida* más un censo del estrato superior de esta especie arbórea. Se caracterizó principalmente por alta cobertura y frecuencia de *S. ainoae*, especie censada solo en *N. nitida*. Dentro de este grupo se puede distinguir a su vez dos subgrupos (A1 y A2). El clúster A1 presentó alta cobertura de *S. ainoae* y *Pseudocyphellaria divulsa*, además, alta frecuencia de *S. caulescens*. El clúster A2 se diferencia de clúster A1 por presentar alta cobertura de *S. ainoae* pero ausencia de *Pseudocyphellaria divulsa*, además de alta frecuencia de *Pseudocyphellaria nitida* y *S. caulescens*. Clúster “B”. “Comunidad *Pseudocyphellaria berberina-Pseudocyphellaria divulsa*”. Formado por 21 censos de vegetación. Se caracterizó por la alta cobertura y frecuencia de *P. divulsa* y alta frecuencia de *Pseudocyphellaria berberina*. Los censos correspondieron principalmente al estrato superior de *N. nitida* y *S. conspicua* y al estrato inferior de *Drimys winteri*. Clúster “C”. “Comunidad *Pseudocyphellaria nitida*”. Formado por 31 censos de vegetación. Presentó alta cobertura y frecuencia de *P. nitida*. A su vez se pueden diferenciar dos subgrupos (C1 y C2). El Clúster C1 se caracterizó por la alta cobertura y frecuencia de *P. nitida* y *P. berberina*, el resto de las especies presentó baja frecuencia. Este clúster está formado por censos que incluyeron a las tres especies arbóreas. De ellos, el 69% corresponden al estrato superior. El clúster C2 se diferenció de C1 por presentar alta cobertura de *P. nitida* pero baja cobertura de *P. berberina* (7%), además, alta frecuencia *P. divulsa* y *L. tenerum*. Clúster “D”. “Comunidad *Pseudocyphellaria berberina*”. Formado por 15 censos de vegetación. Presentó alta cobertura y frecuencia de *P. berberina*. El 73% del total de censos de este clúster corresponden a *D. winteri* y presentaron distribución homogénea entre los estratos. Clúster “E”. “Comunidad de *Leifidium tenerum-Pseudocyphellaria coerulescens*”. Formado por siete censos de vegetación. Principalmente constituido por *P. coerulescens* y *L. tenerum* las que alcanzaron la mayor cobertura (25%) y frecuencia (57%), respectivamente. El 57% del total de censos corresponden a *D. winteri* y el 100% de ellos correspondieron al estrato superior de esta especie arbórea.

Figura 5. Agrupaciones separadas según clúster establecidos (A-B-C-D-E).



Distribución vertical por grupos funcionales

El porcentaje de riqueza de especies y cobertura de los grupos funcionales de líquenes por estrato se muestra en la Figura 6 y se definen en la Tabla 1. El estrato superior presentó el mayor número de grupos funcionales en las tres especies arbóreas (Figura 6A). Sin embargo, el mayor porcentaje de cobertura individual por grupo funcional se registró en el estrato inferior (Figura 6B). El grupo de líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados (FPA) presentó el mayor porcentaje de cobertura en el estrato inferior de *Drimys winteri* y *Saxegothaea conspicua* (80 y 54%; respectivamente; Figura 6B). En *Nothofagus nitida* el mayor porcentaje se registró en el estrato superior (42%). Líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados (FPE) presentó el mayor porcentaje de cobertura en el estrato inferior de *S. conspicua* (44% de cobertura), disminuyendo con la altura.

En *N. nitida* aumentó respecto a la altura (14 a 26%) y se concentró solo en la parte inferior de *D. winteri* alcanzando el 20,4%. Líquenes foliosos con cifela (FOC) representado por *Sticta ainoae*, esta especie fue registrada sólo en *N. nitida*. Alcanzó el 63% de cobertura en el estrato inferior disminuyendo bruscamente respecto al estrato superior (1,4%). Líquenes fruticulosos (FRT) fue registrado sólo en el estrato superior en todas las especies arbóreas. La mayor cobertura se registró en *N. nitida* (25%), seguido de *S. conspicua* (22%) y *D. winteri* (3%). Líquenes foliosos sin cifelas ni pseudocifelas (FOL) registrado solo en el estrato superior de *D. winteri* donde alcanzó 12% de cobertura. Finalmente cianolíquenes (CIL) presentó el mayor porcentaje de cobertura en el estrato inferior de *N. nitida* disminuyendo con la altura (13 y 4% respectivamente). En *S. conspicua* aumentó desde el estrato inferior al estrato superior (2 y 9%, respectivamente) y en *D. winteri* se registró solo en el estrato superior (13%).

Evaluación del microclima

La Figura 7 resume los valores de humedad relativa, temperatura media y la medida acumulada del déficit de presión de vapor (DPV) en los dos estratos analizados. Los sensores del estrato inferior (0-0,5 metros del suelo), presentaron mayor valor de humedad ($p < 0,001$) y menor valor de temperatura que los sensores del estrato superior (0,5-1,8 metros del suelo) (Figura 7A y 7B, respectivamente). En el caso de la temperatura media se registraron diferencias en ambos estratos pero el *p-valor* no fue significativo. Finalmente, DPV aumentó con la altura registrándose diferencias significativas entre ambos estratos ($p < 0,001$; Figura 7C).

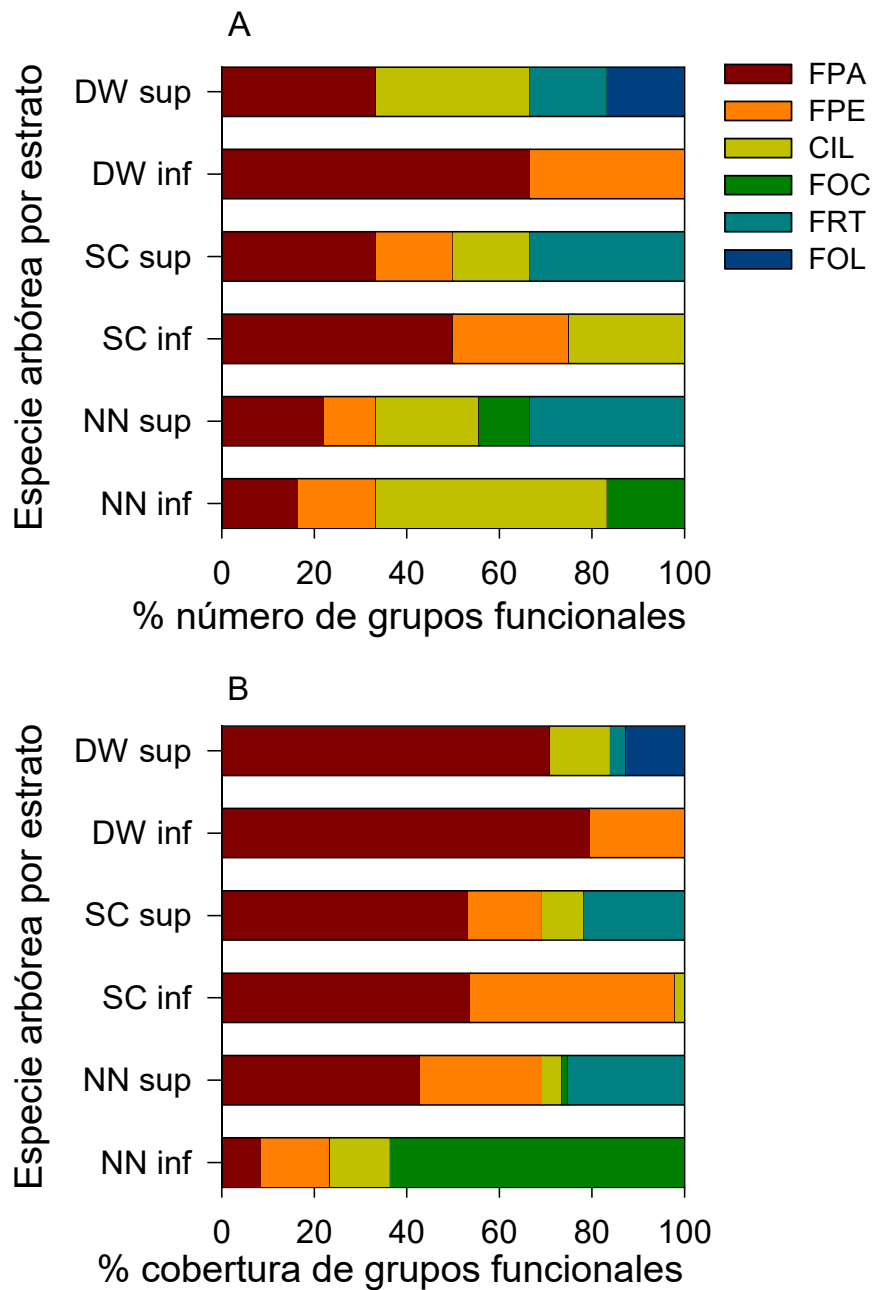


Figura 6. A. Porcentaje de la riqueza de especies según el grupo funcional. B. Porcentaje de cobertura por grupo funcional de líquenes epífitos de tres especies arbóreas presentes en el bosque mixto. NN: *Nothofagus nitida*, SC: *Saxegothaea conspicua* y DW: *Drimys winteri*. Estrato inferior (0-0,5 metros del suelo); estrato superior (0,5-1,8 metros del suelo). Donde, líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados (FPA), líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados (FPE), cianolíquenes (CIL), líquenes foliosos con cifela (FOC), líquenes fruticulosos (FRT) y líquenes foliosos(sin cifelas ni pseudocifelas) (FOL).

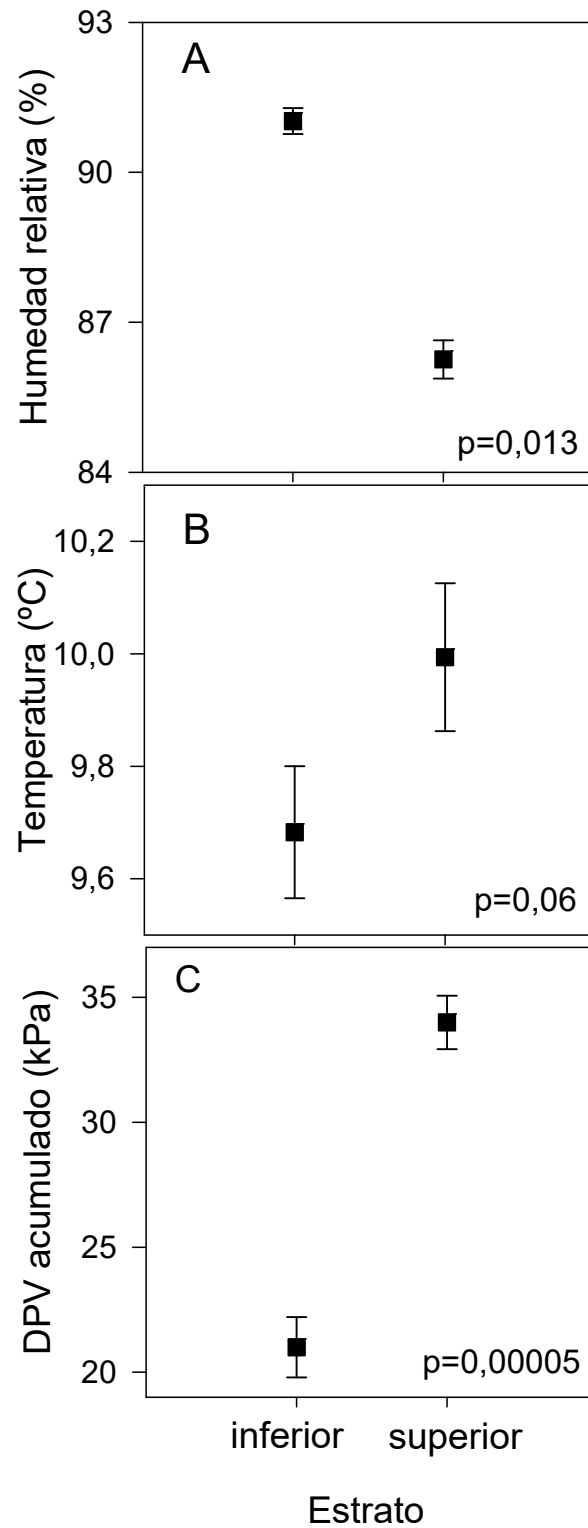


Figura 7. A. porcentaje de humedad relativa, B. temperatura (°C), y C. déficit de presión de vapor (DPV). Estrato inferior (0-0,5 metros del suelo); estrato superior (0,5-1,8 metros del suelo). (n=5 incluye error estándar).

DISCUSIÓN

Las condiciones de alta humedad y baja intensidad de luz registradas en este tipo de bosque (Woda *et al.*, 2006), parece resultar más bien desfavorable para algunos líquenes ya que estarían limitados en términos de cobertura y presencia especies (Gauslaa *et al.*, 2007; Hilmo *et al.*, 2009), por otros grupos como por ejemplo, briofitos y helechos que dominan mejor bajo estas condiciones (Sillett & McCune, 1998; Woda *et al.*, 2006). Nuestros resultados coinciden con esta afirmación ya que el número de especies registradas en este estudio (14 especies) resulta más bajo que los registrados en zonas de mayor exposición como en turberas de *Sphagnum* y pulvinadas (35 y 23 especies respectivamente; Villagra *et al.*, 2009), *Nothofagus pumilio* (19 especies; Bustamante *et al.*, 1989), *Araucaria araucana* (más de 30 especies; Rubio *et al.*, 2013). Sin embargo, la diversidad de líquenes representada en este estudio, guarda una estrecha afinidad con aquella del bosque lluvioso templado del sur de Chile compartiendo con ésta el 20% de los géneros del estrato tronco y ramas descrito por Galloway (1997). Por otra parte, sería necesaria la evaluación de cambios en las comunidades en un gradiente por encima de los 2 metros de altura ya que probablemente aumente el número de especies de líquenes (McCune *et al.*, 2000; Fritz, 2009; Marmor *et al.*, 2010) debido a que las condiciones de luz mejoran verticalmente con la altura del árbol (Sillett & Antoine, 2004).

La riqueza de especies de macrolíquenes epífitos varía significativamente entre especies de árboles hospederos (Ellis, 2012; Li *et al.*, 2015; Figura 4A). En nuestro estudio la mayor riqueza de especies y mayor valor del índice de diversidad de Shannon la presentó *Nothofagus nitida* (11 spp. $H' = 2,2$, respectivamente), seguida de *Saxegothaea conspicua* (7 spp.; $H' = 1,7$) y *Drimys winteri* (7 spp.; $H' = 1,6$) (Tabla 1 y Tabla 3). Como se mencionó en la sección materiales y métodos en el área de estudio *N. nitida* y *S. conspicua* se mantienen en la zona más central y sombría de la parcela. A diferencia de *D. winteri* el cual se localiza en las zonas más expuestas y/o borde del bosque. Estas diferencias están apoyadas por el mayor valor del índice de similitud obtenido (Tabla 4), ya que este reveló mayor disimilitud entre las comunidades de *N. nitida* y *D. winteri* que entre *N. nitida* y *S. conspicua*. Por otra parte, aunque no se hayan analizado características propias de las especies hospederas, existen variaciones, por ejemplo, pH y textura de la corteza que puedan afectar la distribución de líquenes epífitos (Sillett & Antoine, 2004; McMullin *et al.*, 2010; Ellis, 2012; Pereira *et al.*, 2014). Por lo que las diferencias entre las comunidades, especialmente entre *N. nitida* y *D. winteri* se podrían explicar por características propias de la fisonomía de la corteza. En este sentido, *D. winteri* presenta una corteza de textura lisa que podría reducir la retención de agua y nutrientes derivados de la lluvia o del agua de condensación que es interceptada de la

niebla (Woda *et al.*, 2006). Mientras que *N. nitida* posee una corteza con grietas y más gruesa que *D. winteri* (Donoso, 2006). Los efectos de la heterogeneidad del medio físico sobre el crecimiento de los líquenes siguen siendo poco explorados en Chile (Pereira *et al.*, 2014).

Los macrolíquenes epífitos registrados sugieren que 7 de las 14 especies tenían preferencia por una especie arbórea (Tabla 1 y 2), coincidiendo con datos de otros trabajos en bosque templados y boreales (Pereira *et al.*, 1999; Hedenäs & Ericson, 2000; Jüriado *et al.*, 2003; Ellis, 2012). El árbol hospedero con mayor número de especies exclusivas fue *N. nitida* (especialmente cianolíquenes por ejemplo, *Collema laeve*, *Sticta caulescens*, *Sticta hypocra*). Lo que sugiere que esta especie puede tener cualidades particularmente favorables para el crecimiento de estas epífitas. Por otra parte, *D. winteri* presentó dos especies exclusivas dentro de la unidad (*Lepolichen coccophorus* y *Platismatia glauca*) las cuales han sido relacionadas con una mayor amplitud de sustratos y principalmente asociadas en ambientes con mayor intensidad de luz (McCune, 2000; Hauk & Meissner, 2002; Marmor *et al.*, 2012).

A nivel de estratos nuestros resultados indican estadísticamente que las diferencias solo se presentan en *D. winteri*. Sin embargo, la distribución de ciertas especies nos indican preferencias en su distribución respecto a diferentes microambientes ofrecidos por el forófito, lo que probablemente refleje un conjunto de requerimientos ecofisiológicos necesarios para adaptarse al ambiente (Parra *et al.*, 2009). En este sentido, por una parte se encontró un mayor número de especies en el estrato superior en las tres especies arbóreas (Figura 4B), reuniendo el mayor número de clorolíquenes, mientras que la mayor distribución de cianolíquenes se registraron en las zonas más sombrías y de mayor humedad. Esto coincide con distintos estudios que han reflejado un patrón a través del gradiente vertical en que el número de epífitas tiende a aumentar desde la base del árbol hasta el dosel (Díaz *et al.*, 2009; Normann *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2015). Probablemente este patrón esté relacionado con las condiciones microclimáticas fluctuantes a través del árbol (Barkman, 1958; Meinzer & Goldstein, 1996; Rambo, 2010) con un aumento de la temperatura y disminución de la humedad desde el suelo al dosel. En tanto el análisis de conglomerados apoya esta variación y distribución de macrolíquenes en cuanto a la composición por especie arbórea y por estrato (Tabla 1; Figura 5). La principal asociación diferencial establecida la encontramos en la base de *N. nitida* entre la especie dominante *Sticta ainoae* y las especies *P. divulsa* y *S. caulescens* (Figura 5, clúster A1 y A2). Acompañan a esta asociación varias especies de cianolíquenes (por ejemplo, *Sticta caulescens*, *Sticta hypocra* y *Collema laeve*), diferenciándose incluso del estrato superior del mismo forófito. Esta asociación resultaría ser de alta fragilidad ya que las epífitas de sombra son más sensibles a los cambios ambientales,

principalmente porque son dependientes de la humedad relativa y sufren fotoinhibición cuando se expone a mayor luz solar que en su entorno normal (Gauslaa *et al.*, 2001; Green *et al.*, 2008; Kranner *et al.*, 2008). Además, esta asociación se vería favorecida por la formación de pequeños encharcamientos de agua observados en la base de esta especie arbórea producto del escurrimiento fustal. Lo que favorecería a los cianolíquenes que requieren agua líquida para iniciar el proceso fotosintético (Lange *et al.*, 1986).

Por otra parte, existe un conjunto de especies más generalistas (definidas así ya que se presentan en las tres especies arbóreas) que principalmente se concentran en las zonas intermedias de las especies hospedantes (por ejemplo, *Pseudocyphellaria nitida*, *Pseudocyphellaria berberina*, *Leifidium tenerum*). Estas especies, pese a desarrollarse en una zona de alta humedad durante el año (Woda *et al.*, 2006), probablemente tienen requerimientos más moderados de este factor como los observados en el estrato superior de *N. nitida* y *S. conspicua*. Otra clara asociación establecida desde el análisis de conglomerados se presentó en *D. winteri*, especie asociada a zonas más expuestas del bosque. Se registró principalmente *P. berberina* con *P. coerulescens*, *P. glauca* y *L. coccophorus* (Grupo D y E en el conglomerado). Estas especies se han encontrado en ambientes de mayor exposición y caracterizan la flora de *D. winteri* especialmente el estrato superior. Este conjunto de epífitos ha sido relacionado con una amplitud de sustratos pero principalmente con mayor intensidad de la luz (Galloway, 1997; Hauk & Meißner, 2002; McCune, 2000). La colonización líquénica responde así a una serie de condiciones determinadas por la heterogeneidad del microclima (Barkman, 1958; Kermit & Gauslaa, 2001; Schneider & Schmitt, 2011).

La altura en la que se desarrollan los 5 grupos funcionales en la especie hospedante refleja probablemente el grado de sensibilidad de las diferentes especies a la desecación (Parra *et al.*, 2009; Rambo, 2010), reflejo de diferentes grados de adaptación a las diferentes condiciones de humedad y de luz (Li *et al.*, 2013, 2015). Los líquenes fruticulosos (FRT) presentaron un claro incremento en la riqueza de especies y de la cobertura en el estrato superior de *N. nitida* y *S. conspicua*. Los valores del DVP y temperatura son más altos y la humedad relativa más baja. Este hecho coincide con lo señalado por Rambo (2010) quien evaluó la abundancia de *Bryoria fremontii* en relación al gradiente vertical de DPV, estableciendo una asociación entre el aumento de este factor y la abundancia de *B. fremontii*. El grupo de líquenes foliosos (FOL) solo fue censado en el estrato superior de *D. winteri*. Este grupo está representado por las especies *Platismatia glauca* y *Lepolichen coccophorus*, especies anteriormente descritas con mayor requerimientos de luz. El grupo de líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados (FPA) es un grupo

registrado en todos los estratos evaluados. Sin embargo a nivel de cobertura el mayor porcentaje fue registrado en *S. conspicua* y *D. winteri* (Figura 8), probablemente y como se ha mencionado anteriormente, estos macrolíquenes (*Pseudocyphellaria nitida* y *P. berberina*) están bien adaptados dentro de los bosques templados de Chile a zonas de intensidad ligera a moderada de luz (Galloway, 1997). Líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados (FPE) presentó la mayor cobertura en *S. conspicua* concentrándose en la base de este forófito y disminuyendo en altura. Esta especie presentó una mayor cobertura en las zonas más sombrías del bosque. Líquenes foliosos con cifela (FOC) es exclusivo de *N. nitida* y cubre el estrato inferior de esta especie arbórea (Tabla 2). Esta especie se desarrolla en la zona más sombría y húmeda del bosque (Galloway, 1994) y recibe gran aporte de escorrentía fustal. Acompaña también a esta especie el grupo de cianolíquenes (CIL) como especies acompañantes. CIL presentó mayor riqueza de especies en *N. nitida*, concentrándose en el estrato inferior de esta especie arbórea. Este patrón ha sido reportado en los bosques templados y boreales, donde la preferencia de cianolíquenes por la base de los árboles está relacionada con su éxito adaptativo a microhábitats más sombríos y húmedos (Ellis & Coppins, 2006). La presencia de especies como *Pseudocyphellaria coerulescens* (CIL) y *Dictyonema glabratum* (CIL) (Galloway, 1992) es común en zonas con más exposición a la luz como se ha registrado en *Drimys winteri* y en sitios escasamente iluminados en el interior del bosque como en *Saxegathoea conspicua*.

Las principales conclusiones del capítulo son 1. La diversidad de especies presentes en el bosque siempreverde varía horizontalmente entre los forófitos estudiados, reuniendo la mayor diversidad de macrolíquenes en *Nothofagus nitida* (interior del bosque), 2. La distribución de cianolíquenes y líquenes foliosos con cifelas es mayor en el estrato inferior más sombrío y de mayor humedad, mientras que la mayor distribución de clorolíquenes y especies indicadoras de zonas expuestas se reúne en el estrato superior. 3. El hábitat caracterizado por la comunidad *Sticta caulescens-Sticta ainoae* y localizado solo en el estrato inferior de *Nothofagus nitida* es la única que combina los biotipo CIL y FOC. Esta preferencia puede estar asociada a propiedades biológicas de las especies que las hacen más eficientes y exclusiva en el uso de ese microhábit particular, que parece ser el hábitat más frágil del estudio.

RESPUESTA A LA DESECACIÓN PROLONGADA DE MACROLÍQUENES EPÍFITOS DEL BOSQUE SIEMPREVERDE TEMPLADO LLUVIOSO EN CHILE



INTRODUCCIÓN

Los bosques siempreverdes de la Cordillera de la Costa de Chile constituyen un ecosistema único en el mundo debido a su especial composición florística (Armesto *et al.*, 1994; Villagrán & Hinojosa, 1997; Ramírez & San Martín, 2005). El régimen hídrico de la zona hace posible que estos bosques se caractericen por una densa vegetación de epífitas (Woda *et al.*, 2006) constituyendo un aporte relevante a la biodiversidad local (Galloway, 1997; Villagrán *et al.*, 2004; Ardiles *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2009; Marticorena *et al.*, 2010; CONAF, 2014). Específicamente, la diversidad de líquenes epífitos y su gran biomasa en estos bosques los hace un componente visible e importante del ecosistema forestal (Galloway, 1997). A pesar de estos antecedentes, los bosques siempreverde de la Cordillera de la Costa han estado expuestos a un fuerte deterioro producto de una continua intervención antrópica a través del reemplazo de especies nativas por plantaciones de interés forestal o agrícola (Armesto *et al.*, 1992; Neira *et al.*, 2002). En este sentido, existen múltiples consecuencias producto de la gestión inapropiada de los ecosistemas que pueden alterar la biodiversidad y equilibrio de estos organismos, por ejemplo un incremento en la cantidad de borde en el hábitat por efecto de la fragmentación, una disminución de la cobertura arbórea y la reducción de la distancia entre el límite del bosque y el interior del mismo, lo que podría acarrear consecuencia como por ejemplo, la alteración del régimen lumínico del hábitat (Gauslaa & Solhaug, 1996; Esseen & Renhorn, 1998). Junto con ello, una amenaza continua a la que se enfrentan este tipo de bosques en Chile es el cambio climático, con unas predicciones de cambio en las precipitaciones a lo largo del país, con una fuerte tendencia a la disminución de estas principalmente entre los paralelos 30-42 °S (aproximadamente entre la Región de Antofagasta y de Los Lagos). Si unimos esto a un probable aumento de la temperatura (CEPAL, 2012), el resultado es una clara amenaza a los recursos hídricos y a la vegetación natural de estos bosques, que podrían tener consecuencias negativas, especialmente sobre aquellas especies que para mantener su metabolismo activo necesitan mayor disponibilidad de agua en el ambiente.

Organismos poiquilohídricos, como los líquenes son capaces de sobrevivir a largos periodos deshidratados (Green *et al.*, 2011; Péli *et al.*, 2011). Sin embargo, no todos pueden hacer frente de manera eficaz al déficit hídrico. Por ejemplo, especies adaptadas a hábitats forestales sombríos y con alta humedad relativa han mostrado ser altamente sensibles a la desecación (Lange *et al.*, 1994; Green *et al.*, 2011). Esto nos plantea la pregunta qué grado de desecación pueden tolerar estos epífitos para afrontar condiciones ambientales previstas como consecuencia de un cambio climático o por causas derivadas del manejo del hábitat que generen impactos en la

disponibilidad hídrica. Siguiendo esta línea argumental, estudiar la respuesta de la capacidad fotosintética frente a la disminución de la disponibilidad hídrica, además de la respuesta frente al efecto lumínico en especies con diferente morfología y patrones de distribución dentro de una misma unidad forestal nos debería permitir comprender la adaptación de estos epífitos y como pueden responder frente a los posibles cambios ambientales que se puedan producir.

Se ha demostrado que la alteración del hábitat en epífitos poiquilohídricos puede influir directamente en la diversidad y/o en la composición de las especies asociadas a una unidad forestal con consecuencias irreversibles sobre su funcionamiento (Green & Lange, 1991; Esseen, 2006; Rosabal *et al.*, 2012). Esto se debe principalmente a que carecen de mecanismos que regulen la absorción y pérdida del agua (Green & Lange, 1994), y porque muchos epífitos están altamente especializados tanto a la especie hospedera, como a los microhábitats ofrecidos por esta (Cornelissen & TerSteege, 1989; Sillett & Rambo, 2000; Li *et al.*, 2015). Además, la naturaleza poiquilohídrica de los líquenes se traduce en que sólo están activos cuando están hidratados (Kappen & Valladares, 2007), restringiendo la actividad fotosintética a estos eventos. Por tanto, los periodos de productividad en estos organismos pueden variar desde cero a un máximo de actividad en cuestión de minutos dependiendo del agua disponible (Lange *et al.*, 1986). Junto con esto, debido a que la exposición a altas irradiaciones aumenta las pérdidas por evaporación del agua, la fotosíntesis de los líquenes se limita a menudo a períodos en los que las irradiaciones son relativamente bajas, como en un evento de lluvia o en las primeras horas de la mañana (Palmqvist, 2000). Por esto es primordial entender la respuesta de estos epífitos ante las fluctuaciones ambientales y predecir hasta cierto punto su respuesta frente a la adversidad pronosticada por el cambio climático global. Si tanto los límites de tolerancia, como la capacidad adaptativa son excedidas, el estrés puede ocasionar daños permanentes e incluso la muerte de estos epífitos (Green *et al.*, 1991). Por ejemplo, MacFarlane & Kershaw (1980) mostraron que la fotosíntesis neta en *Pelitetigera aphthosa*, especie adaptada a un sistema sombrío se redujo posiblemente como resultados de fotoinhibición (Demmig-Adams *et al.*, 1990) por la exposición a mayor irradiación y aumento de la temperatura producto de un clareo del bosque.

En general los líquenes de bosques adaptados a la sombra muestran baja resistencia a una alta irradiación (Gauslaa & Solhaug, 1996, 2000), además se ha demostrado que algunas de ellas son especies amenazadas y/o en declive (Tønsberg *et al.*, 1996). Gauslaa & Solhaug (1996) con el fin de entender cómo la tala del bosque afecta a estos epífitos, y por qué algunas especies son más sensibles que otras compararon la susceptibilidad al estrés en los talos desecados en tres comunidades contrastadas *Lobarion* (*Lobaria pulmonaria*, *L. amplissima*, *L. virens* y *Sticta sylvatica*), *Usneion* (*Usnea longissima* y *Evernia divaricata*) y *Parmelion* (*Parmelia sulcata*, *Pleurosticta acetabulum* y

Parmelina tiliacea). Estos autores mostraron que un aumento repentino en la intensidad de luz genera una rápida y fuerte disminución de la eficacia fotosintética (F_v/F_m) principalmente en la comunidad *Lobarion*, resultando más susceptible a la alta radiación que las especies de *Usneion* con un nivel moderado de fotoinhibición y una mayor resistencia a la desecación en las especies de *Parmelion*. Estos resultados apuntan que el manejo forestal que involucre aumento en la intensidad de radiación es una amenaza importante para los líquenes indicadores de continuidad ecológica (*Lobarion*) y por otra parte, confirman la aplicabilidad de F_v/F_m (rendimiento cuántico del PSII) para evaluar el daño de alta radiación. Con estos antecedentes es evidente que cuando el microambiente de los epífitos cambia los procesos fisiológicos de estos son directamente afectados. Entre las principales respuestas para evaluar de los líquenes epífitos a cambios en los factores ambientales, como la disponibilidad de agua, la radiación solar y la temperatura, se encuentran una reducción tanto en la eficacia cuántica del fotosistema II como en la tasa de asimilación de CO_2 , así como también cambios en las concentraciones de pigmentos, entre otros (Corniliseen *et al.*, 2001; Pisani *et al.*, 2007; Paoli *et al.*, 2010). Al presentar dependencia de las condiciones ambientales para activar su metabolismo, los líquenes epífitos del interior del bosque en particular, y las cubiertas de criptógamas en general, pueden ser buenos indicadores de estadios iniciales de impacto ambiental. En este sentido, la evaluación de su respuesta metabólica ante modificaciones ambientales tiene un poder predictivo relevante que se podría extender al ecosistema.

La fluorescencia de clorofila *a* es una herramienta altamente sensible y no invasiva utilizada en diferentes grupos de organismos fotosintéticos que, por una parte permite conocer el estado del fotosistema II (PSII) durante el transporte electrónico y por otro lado, evaluar su sensibilidad frente a factores como temperatura, luz, disponibilidad hídrica, incluso utilizada para evaluar el efecto de la contaminación (Scheidegger *et al.*, 1997; Gauslaa & Solhaug, 2000; Barták *et al.*, 2003; Candotto Carniel *et al.*, 2015). Uno de los parámetros más utilizados en los estudios de campo es el rendimiento cuántico del PSII (F_v/F_m), el cual es un indicador de la máxima eficiencia cuántica fotoquímica después de un período adecuado de adaptación a la oscuridad (Genty *et al.*, 1989; Kranner *et al.*, 2008). Estudios funcionales que evalúen la desecación y que documenten la actividad de la fotosíntesis de los líquenes en Chile aún son escasos (Atala *et al.*, 2015), a pesar del hecho de que la principal amenaza por cambio climático en el sur del país sea una continua disminución de las precipitaciones y aumento de las temperaturas (González-Reyes *et al.*, 2013; Oficina de Cambio Climático, 2014). Además, la continuidad de estos cambios conlleva una pérdida de la disponibilidad hídrica para las plantas debido al incremento de evapotranspiración como consecuencia del incremento de temperatura (IPCC 2014). Esta

situación agravará la sequía y comprometerá la supervivencia de especies que ya se encuentran en el límite de sus posibilidades desde el punto de vista hídrico (Martínez-Vilalta *et al.*, 2002). Así el objetivo principal de este capítulo es relacionar el metabolismo de los líquenes epífitos y su respuesta tanto a la desecación prolongada, como también a diferentes niveles de radiación, con los diferentes grupos funcionales y patrones de distribución obtenidos dentro de un bosque siempreverde de la cordillera costera de la región valdiviana.

Para ello consideraremos los siguientes objetivos específicos:

1. estudiar la eficiencia del aparato fotosintético (F_v/F_m) *in situ* de macrolíquenes epífitos de la Cordillera de la Costa Valdiviana.
2. determinar la respuesta del aparato fotosintético (F_v/F_m) frente a la desecación prolongada de macrolíquenes epífitos.
3. estimar la concentración de pigmentos fotosintéticos (clorofila total $a+b$ y carotenos) en cada especie y su evolución durante la desecación prolongada.
4. determinar las tasas de transporte electrónico máximas (ETR_{max}) y las densidades de flujo fotónico saturantes ($PPDF_{sat}$) alcanzadas para cada especie.
5. establecer patrones comunes entre las especies de macrolíquenes de un bosque siempreverde para evaluar si el cambio ambiental proyectado afecta de forma conjunta a las especies o si la respuesta es específica.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron ocho macrolíquenes según el grado de representación en cuanto a la cobertura dentro del área de estudio (Figura 1) obtenida en el capítulo I. Así las especies seleccionadas fueron *Pseudocyphellaria coerulea* y *Sticta caulescens* del grupo CIL (cianolíquenes), *Leifidium tenerum* y *Bunodophoron australe* del grupo FRT (fruticulosos), *Pseudocyphellaria berberina* y *Pseudocyphellaria nitida* del grupo FPA (líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados), *Pseudocyphellaria divulsa* del grupo FPE (líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados) y *Sticta ainoae* del grupo FOC (líquenes foliosos con cifelas). La respuesta fotosintética de las especies en el tiempo fue analizada en cuatro ejemplares de cada especie. Las medidas se realizaron *in situ* (tiempo 0) y después de 13, 24, 53 y 71 días de retirados del área de estudio.

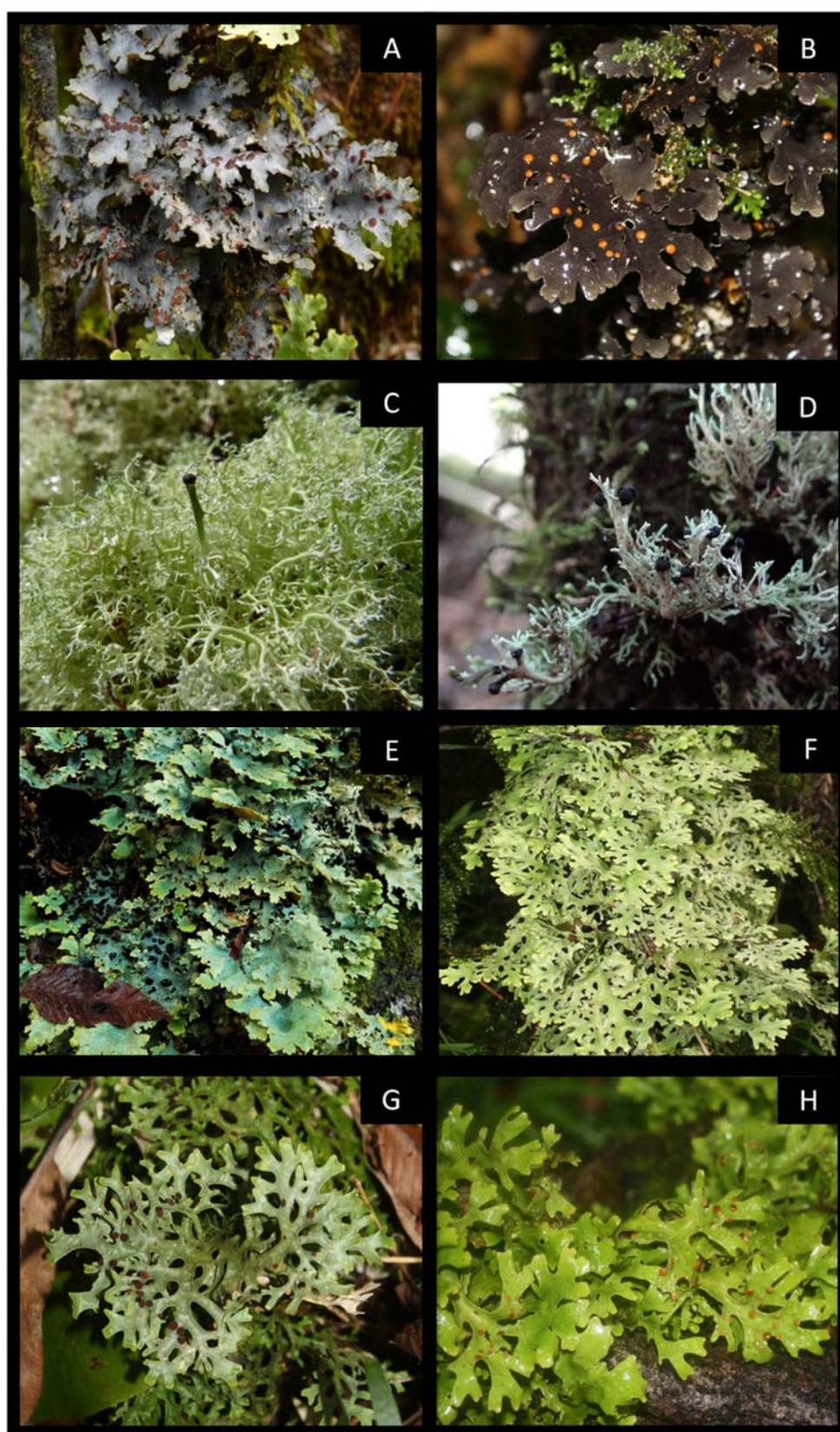


Figura 1. Macrolíquenes seleccionados: A) *Pseudocyphellaria coerulescens* B) *Sticta caulescens* C) *Leifidium tenerum* D) *Bunodophoron australe* E) *Pseudocyphellaria berberina* F) *Pseudocyphellaria nitida* G) *Pseudocyphellaria divulsa* H) *Sticta ainoae*.

Las características de la respuesta fotosintética fueron determinadas mediante la medida de fluorescencia de la clorofila *a* tomada con un fluorómetro portátil Modelo Mini-PAM (Walz, Alemania). Los parámetros evaluados fueron:

1. Rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (F_v/F_m) el cual es una medida potencial de la eficiencia fotosintética del fotosistema II. Nos indica el estado del PSII. Este parámetro se determina mediante la ecuación: $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$

Donde, F_0 es la emisión de fluorescencia cuando los centros de reacción están completamente abiertos y son iluminados con luz no actínica (luz que no inicia el transporte de electrones en los centros de reacción) y F_m es la máxima emisión de fluorescencia cuando todos los centros de reacción se cierran después de la exposición a un pulso de luz de saturación (luz actínica) en muestras adaptadas a oscuridad (Maxwell & Johnson 2000).

2. Rendimiento fotosintético efectivo del fotosistema II (Φ_{PSII}) o Yield (II) (Genty *et al.*, 1989). Este parámetro mide la proporción de luz utilizada en transporte de electrones con respecto a la luz absorbida. Es decir, representa la actividad fotosintética a una radiación determinada. Se determina mediante la ecuación: $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_t)/F_m'$

Donde, F_t es la fluorescencia basal de la clorofila tras aplicar luz no actínica emitida bajo iluminación y F_m' es el máximo de fluorescencia emitida por la clorofila después de aplicar un pulso saturante de luz en una muestra iluminada.

Para los líquenes, los valores Φ_{PSII} en la oscuridad (equivalentes a F_v/F_m) variará de acuerdo al fotobionte. En clorolíquenes los valores oscilan entre 0,76 y 0,6. En tanto para aquellos con cianobacterias entre 0,61 y 0,41 (Jensen, 2002). Valores inferiores en este estudio serán considerados como indicador de estrés.

3. Este rendimiento se puede convertir en tasa de transporte de electrones (ETR) y así obtenemos un indicador de la capacidad fotosintética *in vivo* (Maxwell & Johnson, 2000). Este parámetro se determina mediante la ecuación: $ETR = PPFD \times 0,84 \times 0,5 \times Y(II)$.

Donde, PPFD es la radiación fotosintéticamente activa que incide en la superficie de la muestra; 0,84 equivale a la proporción de luz que es absorbida y utilizada por el PSII; la constante 0,5 tiene que ver con la suposición de que los electrones se dividen entre el fotosistema I y II de manera equitativa y $Y(II)$ es el rendimiento fotosintético efectivo del Fotosistema II (Maxwell & Johnson, 2000).

Respuesta frente a la desecación

Todos los ejemplares una vez colectados fueron secados en una habitación con corriente natural de aire por 2 días y almacenados cinco días en un sobre de papel y transportados hasta el Departamento de Biología Vegetal II, Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid. Una vez en el laboratorio se mantuvieron secos en una cámara climática a 15 °C y 60% de humedad durante 12 horas diarias con luz fotosintéticamente activa (PPFD) a $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y a 12 °C y 55% de humedad durante 12 horas diarias en oscuridad (FITOTRON® High Specification Plant Growth Chambers). Después de 13, 24, 53 y 71 días de tratamiento, los ejemplares fueron retirados de la cámara e hidratados a saturación con agua mineral durante 30 minutos. Para la evaluación de rendimiento cuántico máximo del fotosistema II (F_v/F_m) se posicionó el fluorómetro a 2-4 mm con un ángulo de 60° para evitar hacer sombra al talo (Rascher *et al.*, 2000). Posteriormente se realizaron tres medidas de F_v/F_m por ejemplar.

Relaciones hídricas: En los experimentos de relaciones hídricas se utilizaron cuatro ejemplares por especie. Estos fueron hidratados a saturación y pesados en una balanza de precisión (Sartorius, Alemania, 10 mg-220 g) para conocer el máximo contenido hídrico (en inglés, WC “*water content*”). Las muestras fueron evaluados bajo condiciones controladas por un sistema de minicubeta CMS400 (Walz, Alemania) a una radiación constante de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (ya que consideramos que en condiciones naturales no sería saturante para los fotosistemas), 15 °C de temperatura, 80% de humedad relativa y un flujo de aire de $0.6 \times 1 \text{ min}^{-1}$. En este proceso a cada ejemplar se le realiza un seguimiento de deshidratación en el que cada 20 minutos eran pesados hasta que llegaban al 50 % de su máximo contenido hídrico. La masa seca de las muestras fue calculada a partir de la masa obtenida en estufa a 100 °C durante 24 horas (en inglés, DM “*dry mass*”).

Concentración de pigmentos: La concentración de clorofilas y carotenos se determinó en todas las fases del tratamiento con el fin de evaluar la degradación de los pigmentos fotosintéticos en el tiempo. La concentración de clorofila total (Chl *a* y Chl *b*) y carotenos totales (Car) fueron calculadas siguiendo el método de Barnes *et al.*, (1992) y Wellburn (1994), respectivamente. Así, las muestras de cada período fueron troceadas y divididas en 20 mg cada una y sometidas a 6 lavados de un minuto con acetona al 100% saturada con CaCO_3 . Los lavados se realizan para eliminar las sustancias liquénicas de carácter ácido que puedan provocar la degradación de la clorofila (Brown & Hooker, 1977). Posteriormente se añadieron 5 ml de agente extractor Dimetilsulfóxido (DMSO) saturado con CaCO_3 con el cual se incuban en oscuridad a 60° C por 40 minutos, con el fin de maximizar la extracción. Los extractos obtenidos se dejan enfriar hasta

temperatura ambiente (Figura 2) y se lee la absorbancia a 750; 664,9; 648,2; 435; 415 nm con un espectrofotómetro (Uvikon XL, NorthStar Scientific, Reino Unido), utilizando como blanco DMSO saturado en CaCO_3 . La turbidez de los extractos fueron comprobados a 750 nm (debe ser siempre menor de 0.010 unidades de absorbancia). Así,

$$\text{Chl } a = 14.85 A^{664.9} - 5.14 A^{648.2}$$

$$\text{Chl } b = 25.48 A^{648.2} - 7.36 A^{664.9}$$

Para la evaluación del estado de los pigmentos se utilizó el cociente de feofitinización (Pqa), el cual nos indica el estado de degradación de la clorofila a hacia feofitina. Se considera un valor de Pqa óptimo entre 1,3 y 1,4, según la fórmula $\text{Pqa} = A^{435}/A^{415}$ (Balaguer & Manrique, 1991). Se analizaron muestras representativas de todas las especies para el total de clorofila $a+b$ en líquenes de alga verde y clorofila a en especies con cianobacterias (Ronen & Galun, 1984).



Figura 2. Diversidad de extractos de pigmentos fotosintéticos A. *Sticta caulescens* (CIL); B. *Pseudocyphellaria berberina*, (FPA) y C. *Sticta ainoae* (FOC).

Respuesta frente a la luz

Se realizó *in situ* una curva rápida de luz (CRL; Figura 3) por ejemplar (Jensen, 2002). Las CRL son ampliamente utilizadas en la evaluación de adaptaciones a la luz en organismos fotosintéticos (Ralph & Gademann, 2005; Perkins *et al.*, 2006; Pardow *et al.*, 2010) y la evaluación rápida de su capacidad fotosintética. Se aplicaron 8 intensidades lumínicas PPFD en cada CRL las que incrementaban cada 10 segundos (24, 38, 55, 81, 122, 183, 262 y 367 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Las mediciones se realizaron después de hidratar con agua mineral y adaptar las muestras a la oscuridad durante 30 minutos.



Figura 3. Determinación *in situ* de características fisiológicas determinadas vía fluorescencia de la clorofila *a* de 8 macrolíquenes epífitos registradas por un fluorómetro portátil Modelo Mini-PAM (Walz, Alemania).

Análisis estadístico

Los ajustes de la curva de luz fueron basados en Rascher *et al.*, (2000). Para el ajuste de Y(II) frente a PPFD utilizamos una función de decaimiento exponencial doble: $f(x) = m + ae^{-bx} + ce^{-dx}$. Para determinar el punto de la curva de respuesta a la luz del ETR frente a PPFD ajustamos la curva usando una función exponencial simple: $f(x) = a(1 - e^{-bx})$. El punto de saturación a la luz se calculó como el valor de PPFD cuando se alcanzó el 90% de la ETR máxima.

Todos los datos fueron comprobados con la prueba de normalidad y de homogeneidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homogeneidad Levene, respectivamente. Cuando los supuestos se cumplían realizamos un test ANOVA de una vía seguido del análisis a posteriori de Tukey. Cuando algunos de estos supuestos no se cumplían, aplicamos el test no paramétrico de Kruskal-Wallis seguido por el análisis a posteriori Tukey. El paquete estadístico utilizado en estos análisis fue el programa *Statsgraphic* versión 5.1. Para los análisis de regresión lineal, ajuste de curvas y nube de puntos se utilizó el programa *Sigmaplot* 11.0.

RESULTADOS

Desecación

Los valores Fv/Fm de las medidas realizadas *in situ* están resumidas en la Figura 4. Estos valores se encuentran dentro del intervalo observado en varios líquenes foliosos y fruticulosos (Demmig-Adams *et al.*, 1990; Calatayud *et al.*, 1996; Jensen, 2002) y, según Jensen (2002), indican que el estado de los fotosistemas de las muestras en el inicio del análisis (tiempo 0) era saludable. Todas las especies presentaron valores iniciales de Fv/Fm alrededor de 0,6. Los valores más bajos de este parámetro fueron registrados en ambas especies de cianolíquenes (*S. caulescens*=0,62 y *P. coeruleascens*= 0,60), el valor más alto fue registrado en *S. ainoae* (0,72) y *P. nitida* (0,71). En cuanto a la evolución temporal de Fv/Fm (respecto a la medida realizada *in situ*) se registró que a partir del día 13 existe una depresión del parámetro de forma compacta en los grupos CIL, FRT y FPA con significancia estadística respecto al estado fisiológico óptimo del punto de partida ($p < 0,001$, ANOVA, $\alpha = 0,050$). Al final del experimento, se puede observar una tendencia a valores de Fv/Fm inferiores a 0,2 en las muestras estudiadas. Por otro lado, los grupos FOC y FPE presentaron valores Fv/Fm estadísticamente inferiores respecto a la medida *in situ* a partir del día 53 ($p < 0,001$, ANOVA, $\alpha = 0,050$), resultando ambos grupos menos afectados por la desecación prolongada durante las primeras semanas de tratamiento.

Los valores de F_0 y F_m medidos durante los 71 días de tratamiento se resumen en la Tabla 1. Los valores de F_0 en todas las especies evaluadas aumentaron respecto a la medida obtenida *in situ*. Las diferencias son estadísticamente significativas respecto al valor tomado *in situ* para todas las especies a partir del día 53 de exposición a la desecación. Sin embargo, si excluimos a *P. berberina*, los valores de F_0 , serían superiores al valor *in situ* de forma significativa a partir del día 13, el punto de referencia inicial del experimento. Respecto a F_m , todas las especies mostraron una disminución del parámetro con el paso del tiempo hasta los 71 días de tratamiento excepto *P. berberina*, que mostró un aumento. Se encontraron diferencias significativas frente al valor *in situ* en *P. coerulescens*, *S. caulescens*, *L. tenerum*, *P. berberina*, *P. nitida* y *P. divulsa*.

En cuanto a la deshidratación de los talos y el tiempo que necesitan para llegar al 50 % de su máximo contenido hídrico se registraron diferencias significativas entre las especies (Figura 5; *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p = 0,003$; $H=21,70$; $gl=7$). La deshidratación más rápida se registró en ambas especies de cianolíquenes (*P. coerulescens* y *S. caulescens*). El siguiente grupo más rápido en perder el agua desde un contenido hídrico de saturación es FRT (interrumpido por *P. divulsa*, FPE), seguido del grupo FPA (*P. berberina* y *P. nitida*). Finalmente, *Sticta ainoae* (FOC) retuvo por más tiempo el agua y se diferenció respecto a este parámetro de todo el resto de especies de forma clara y significativa. En cuanto al porcentaje del contenido hídrico a saturación (% saturación de agua) se registraron diferencias entre las especies las que se detallan en la gráfica interior de la Figura 5 ($p < 0,0001$, *ANOVA*, $\alpha = 0,05$). *Sticta ainoae* está dentro del grupo con significancia estadística que más agua es capaz de retener (y a la vez es la que más tiempo tarda en deshidratarse), pero esta tendencia no se vuelve a mostrar de forma consistente en el resto de especies estudiadas.

A lo largo del experimento de desecación la concentración de pigmentos fotosintéticos fue muy heterogénea entre las especies y no sigue un patrón definido (Tabla 2). Sólo en el caso de *L. tenerum*, se observó una disminución consecutiva de los pigmentos al ir avanzando la exposición a la desecación. El resto de especies muestran patrones variados con tendencias a ligeras disminuciones o a estabilización del contenido de pigmentos en estadios distintos respecto a la desecación. Sin embargo, pese a esta heterogeneidad se observó un decaimiento diferencial en la concentración de ambos pigmentos fotosintéticos entre el tiempo cero y 71 días de exposición a la desecación en *L. tenerum*, *B. australe*, *P. berberina* y *S. ainoae*.

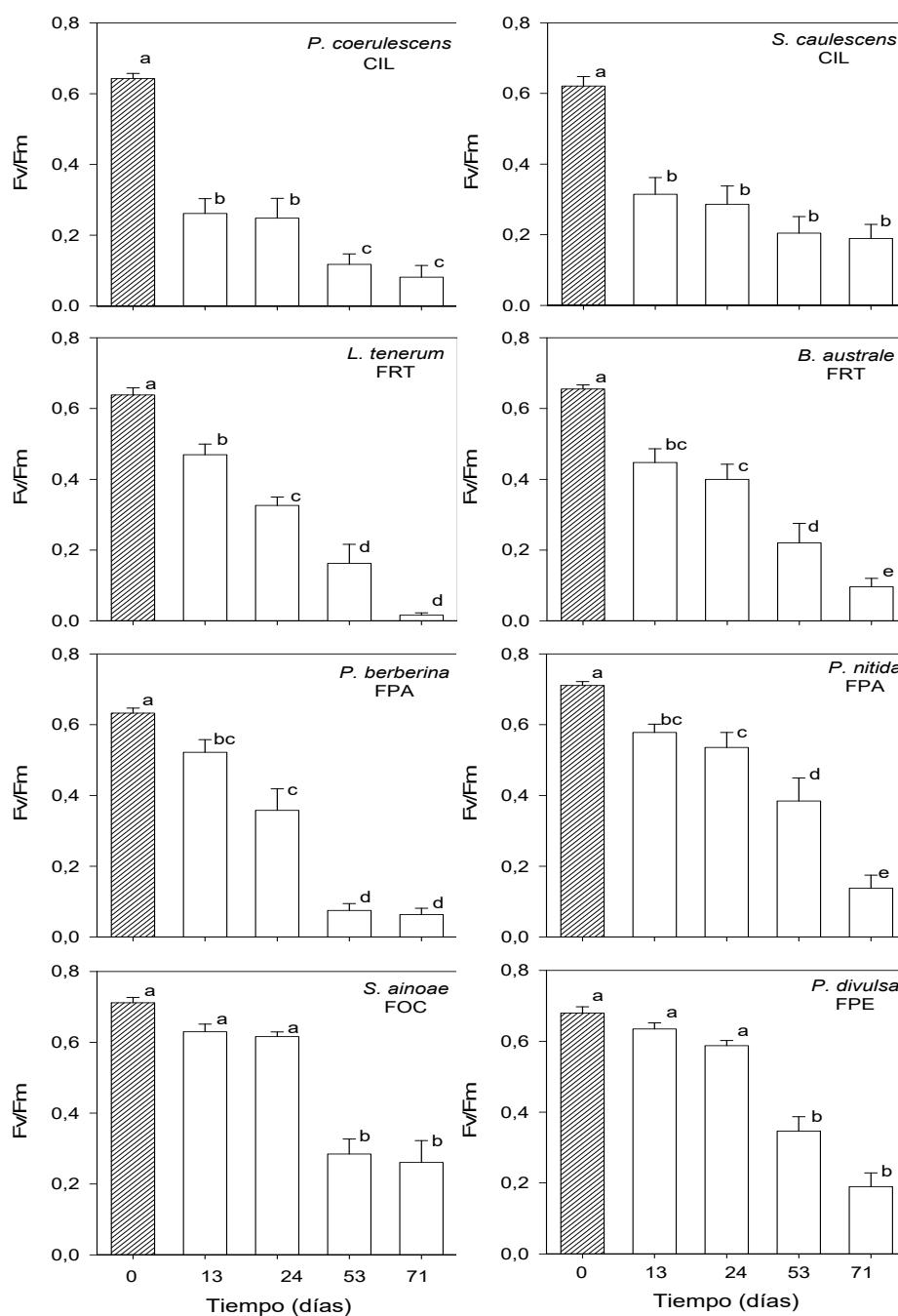


Figura 4. Rendimiento cuántico máximo del Fotosistema II (F_v/F_m) en 8 macrolíquenes epífitos durante la deshidratación prolongada de los talos. Donde, CIL= cianolíquenes, FRT= líquenes fruticulosos; FPA= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados, FPE= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados y FOC= líquenes foliosos con cifelas. Todos los valores aparecen acompañados del error estándar correspondiente. Media \pm ES ($n=4$). Las diferencias estadísticas fueron realizadas mediante ANOVA $p \leq 0,05$, seguido del test post-hoc Tukey's HSD. Letras diferentes indican diferencias significativas de F_v/F_m en el tiempo.

Tabla 1. Evolución del valor medio de los parámetros de fluorescencia de la clorofila *a* en función del tratamiento. Donde F_0 = mínimo de fluorescencia en la oscuridad tras iluminación no actínica en el máximo de hidratación y F_m =fluorescencia máxima en la oscuridad tras pulso de saturación (Maxwell & Johnson 2000). Todos los valores aparecen acompañados del error estándar correspondiente. Media \pm ES (n=4). Las diferencias estadísticas fueron realizadas mediante *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks* y ANOVA $p \leq 0,05$, seguido del test post-hoc Tukey's HSD. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en F_0 y F_m en el tiempo.

Parámetro		F_0							
Especies		<i>P. coerulescens</i> $H = 28,23$ $p < 0,001$	<i>S. caulescens</i> $H = 31,90$ $p < 0,001$	<i>L. tenerum</i> $H = 30,29$ $p < 0,001$	<i>B. australe</i> $H = 26,54$ $p < 0,001$	<i>P. berberina</i> $H = 45,06$ $p < 0,001$	<i>P. nitida</i> $H = 39,46$ $p < 0,001$	<i>P. divulsa</i> $H = 40,75$ $p < 0,001$	<i>S. ainoae</i> $H = 38,99$ $p < 0,001$
Tiempo (días)	0	154,2 \pm 3,4 a	152,2 \pm 2,5 a	146,4 \pm 2,2 a	157,2 \pm 3,7 a	151,5 \pm 3,1 a	147,8 \pm 3,1 a	151,9 \pm 4,7 a	150,1 \pm 3,0 a
	13	263,1 \pm 8,5 b	286,1 \pm 24,3 b	220,5 \pm 8,1 b	275,2 \pm 21,1 b	237,5 \pm 7,6 a	244,1 \pm 8,9 b	244,3 \pm 8,9 b	239,8 \pm 10,5 b
	24	239,3 \pm 12,4 b	256,9 \pm 16,3 b	241,9 \pm 6,8 bc	293,3 \pm 17,7 b	310,2 \pm 19,4 a	343,9 \pm 25,9 c	248,5 \pm 15,0 b	326,8 \pm 18,3 c
	53	251,6 \pm 17,2 b	287,4 \pm 21,2 b	278,8 \pm 24,0 c	284,9 \pm 30,0 b	491,2 \pm 20,0 b	389,3 \pm 11,7 c	361,6 \pm 16,7 c	345,3 \pm 19,5 c
	71	307,9 \pm 25,9 b	223,8 \pm 14,6 b	216,5 \pm 18,9 d	306,7 \pm 24,5 b	484,9 \pm 21,5 b	297,8 \pm 30,4 bd	272,2 \pm 17,2 d	346,4 \pm 30,8 c
Parámetro		F_m							
Especies		<i>P. coerulescens</i> $H = 26,29$ $p < 0,001$	<i>S. caulescens</i> $H = 20,48$ $p < 0,001$	<i>L. tenerum</i> $H = 32,05$ $p < 0,001$	<i>B. australe</i> $H = 16,19$ $p < 0,001$	<i>P. berberina</i> $H = 6,47$ $p = 0,16$	<i>P. nitida</i> $H = 33,15$ $p < 0,001$	<i>P. divulsa</i> $\alpha = 0,050$ $p < 0,001$	<i>S. ainoae</i> $\alpha = 0,050$ $p < 0,001$
Tiempo (días)	0	433,1 \pm 11,7 c	409,7 \pm 19,7 b	410,4 \pm 16,2 bc	457,3 \pm 11,0 ab	415,7 \pm 14,6	513,3 \pm 15,9 b	480,3 \pm 25,0 b	527,2 \pm 22,0 ab
	13	360,4 \pm 14,5 bc	433,2 \pm 27,0 b	424,8 \pm 30,0 c	507,1 \pm 30,8 b	501,8 \pm 12,9	583,2 \pm 23,8 b	677,3 \pm 34,4 c	655,5 \pm 35,4 b
	24	321,8 \pm 16,0 ab	365,3 \pm 25,8 ab	359,1 \pm 6,6 bc	499,1 \pm 38,5 b	496,9 \pm 38,5	760,8 \pm 30,0 c	607,7 \pm 30,0 c	850,5 \pm 40,0 c
	53	283,2 \pm 16,5 a	358,8 \pm 21,4 ab	332,7 \pm 23,2 b	370,3 \pm 38,0 a	533,3 \pm 26,4	649,8 \pm 30,9 bc	559,8 \pm 30,8 bc	492,3 \pm 37,5 a
	71	336,2 \pm 29,2 ab	274,3 \pm 12,7 a	219,7 \pm 19,9 a	339,1 \pm 26,4 a	521,6 \pm 38,0	344,1 \pm 30,6 a	339,3 \pm 23,7 a	485,5 \pm 50,0 a

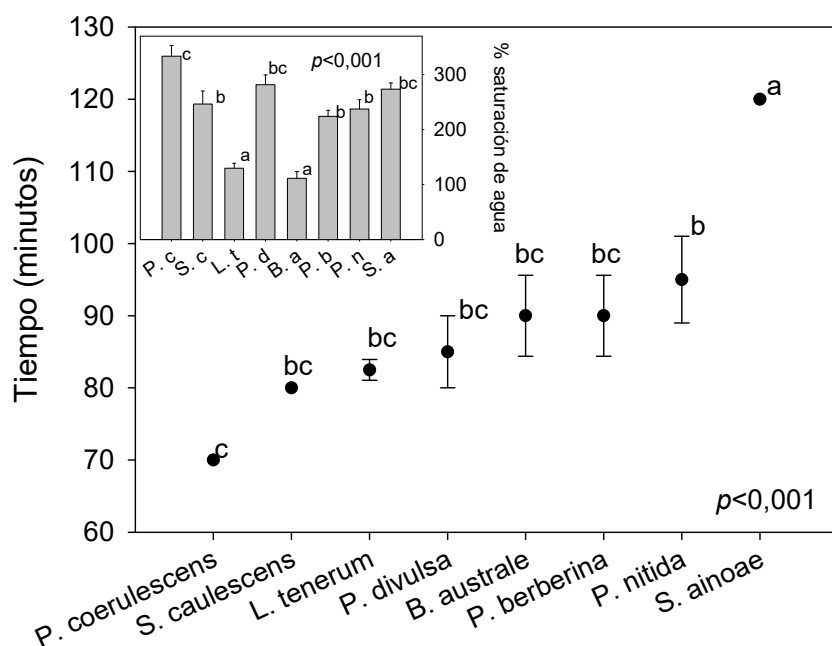


Figura 5. Tiempo de deshidratación de 8 macrolíquenes epífitos para llegar al 50 % de su máximo contenido hídrico. La grafica interior expresa el porcentaje del contenido hídrico a saturación (% saturación de agua). Donde, P.c: *Pseudocyphellaria coerulescens*; S.c: *Sticta caulescens* (CIL); L.t: *Leifidium tenerum*, B.a: *Bunodophoron australe* (FRT); P.d: *Pseudocyphellaria divulsa* (FPE); P.b: *Pseudocyphellaria berberina*; P.n: *Pseudocyphellaria nitida* (FPA) y S.a: *Sticta ainoae* (FOC). Todos los valores aparecen acompañados del error estándar correspondiente. Media \pm ES (n=4). Las diferencias estadísticas fueron realizadas mediante *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks* $p \leq 0,05$, seguido del test post-hoc Tukey's HSD. Letras diferentes indican diferencias significativas de tiempo de deshidratación y % de saturación entre las especies.

Tabla 2. Concentración de clorofila total y carotenos en macrolíquenes epífitos durante los 4 períodos del experimento. La concentración de pigmentos está referida a mg/g. Donde CIL= cianolíquenes, FRT= fruticulosos, FPA= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados, FPE= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados y FOC= líquenes foliosos con cifelas. Todos los valores aparecen acompañados del error estándar correspondiente. Media \pm ES (n=4). Las diferencias estadísticas fueron realizadas mediante Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks y ANOVA $p \leq 0,05$, seguido del test post-hoc Tukey's HSD. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas en la concentración de clorofila total y carotenos en el tiempo.

Tiempo (días)	Clorofila mg/g	Caroteno mg/g	Clorofila mg/g	Caroteno mg/g	Clorofila mg/g	Caroteno mg/g	Clorofila mg/g	Caroteno mg/g
	<i>P. coerulescens</i> CIL		<i>L. tenerum</i> FRT		<i>P. berberina</i> FPA		<i>P. divulsa</i> FPE	
	$\alpha=0,050$; $p=0,039$	$\alpha=0,050$; $p=0,014$	$H=10,13$; $p=0,039$	$H=13,60$; $p=0,009$	$\alpha=0,050$; $p<0,001$	$\alpha=0,050$; $p<0,001$	$\alpha=0,050$; $p=0,2$	$\alpha=0,050$; $p=0,21$
0	0,70 \pm 0,02 ab	0,92 \pm 0,02 ab	1,17 \pm 0,27 a	1,09 \pm 0,23 a	1,94 \pm 0,26 ab	2,47 \pm 0,15 a	1,46 \pm 0,23 a	1,35 \pm 0,20 a
13	0,37 \pm 0,04 a	0,50 \pm 0,04 a	0,88 \pm 0,05 ab	0,82 \pm 0,05 ab	2,15 \pm 0,13 a	2,62 \pm 0,04 a	1,25 \pm 0,23 a	1,23 \pm 0,20 a
24	0,84 \pm 0,13 b	1,05 \pm 0,16 b	0,64 \pm 0,23 abc	0,59 \pm 0,20 abc	1,28 \pm 0,14 bc	1,85 \pm 0,10 b	1,69 \pm 0,23 a	1,64 \pm 0,22 a
53	0,63 \pm 0,12 ab	0,86 \pm 0,07 ab	0,30 \pm 0,03 b	0,30 \pm 0,02 b	0,71 \pm 0,14 c	1,35 \pm 0,14 bc	1,53 \pm 0,15 a	1,41 \pm 0,12 a
71	0,49 \pm 0,13 ab	0,60 \pm 0,16 ab	0,16 \pm 0,03 c	0,16 \pm 0,02 c	0,60 \pm 0,04 c	1,19 \pm 0,12 c	1,03 \pm 0,13 a	1,02 \pm 0,11 a
	<i>S. caulescens</i> CIL		<i>B. australe</i> FRT		<i>P. nitida</i> FPA		<i>S. ainoae</i> FOC	
	$\alpha=0,050$; $p=0,2$	$\alpha=0,050$; $p=0,082$	$H=10,13$; $p=0,039$	$H=10,33$; $p=0,035$	$\alpha=0,050$; $p=0,63$	$\alpha=0,050$; $p=0,476$	$\alpha=0,050$; $p=0,001$	$\alpha=0,050$; $p<0,001$
0	1,05 \pm 0,03 a	1,13 \pm 0,04 a	0,82 \pm 0,15 a	0,78 \pm 0,12 a	1,01 \pm 0,06 a	0,93 \pm 0,05 a	2,22 \pm 0,12 a	1,93 \pm 0,10 a
13	0,60 \pm 0,20 a	0,66 \pm 0,14 a	0,37 \pm 0,09 ab	0,39 \pm 0,10 ab	1,07 \pm 0,20 a	0,90 \pm 0,18 a	1,86 \pm 0,10 ab	1,71 \pm 0,08 ab
24	1,12 \pm 0,19 a	1,17 \pm 0,21 a	0,68 \pm 0,25 ab	0,62 \pm 0,22 ab	1,00 \pm 0,16 a	0,88 \pm 0,12 a	2,23 \pm 0,07 a	2,02 \pm 0,07 a
53	1,04 \pm 0,10 a	1,03 \pm 0,15 a	0,33 \pm 0,09 ab	0,32 \pm 0,09 ab	0,78 \pm 0,24 a	0,63 \pm 0,19 a	1,54 \pm 0,08 b	1,43 \pm 0,05 b
71	1,02 \pm 0,15 a	1,24 \pm 0,13 a	0,23 \pm 0,05 b	0,17 \pm 0,03 b	0,79 \pm 0,13 a	0,69 \pm 0,12 a	1,44 \pm 0,22 b	1,24 \pm 0,19 b

Respuesta a la luz

Las curvas rápidas de luz (CRL) entregan la evolución del rendimiento fotosintético efectivo $Y(II)$ frente a niveles crecientes de radiación. Todos los clorolíquenes presentaron valores de $Y(II)$ alrededor de 0,6 (valor considerado como óptimos para una respuesta adecuada del aparato fotosintético en líquenes) tras un periodo de oscuridad previo al inicio de la curva. En tanto, el grupo CIL formado por *S. caulescens* y *P. coerulescens* presentaron valores inferiores de $Y(II)$ diferenciándose estadísticamente de todos los clorolíquenes (PPFD 0 en la Figura 6; *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H = 25,83$; $gl = 4$). Los ejemplares mostraron una rápida disminución de $Y(II)$ al incrementar gradualmente el flujo de radiación fotosintéticamente activa (PPFD) (Figura 6, Tabla 3). La Tabla 3 muestra la evolución del Yield (valores en porcentaje) respecto al valor inicial en oscuridad frente a 3 radiaciones relevante respecto a momentos concluyentes sobre el estado de los líquenes. $24 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue seleccionada por entregar la disminución del porcentaje de Yield tras aplicar un mínimo de radiación a las muestras, $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue seleccionada ya que a esta radiación todas las especies disminuyeron en \pm el 50% del Yield respecto al valor inicial. Finalmente, $367 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue seleccionada para obtener el porcentaje del rendimiento fotosintético al final de la curva. Tras la aplicación de la primera radiación (24 PPFD) el rendimiento fotosintético en todas las especies disminuyó significativamente respecto al valor inicial ($p = 0,035$) pero el test *post hoc* no diferenció entre especies. El mayor decaimiento a esta radiación se observó en las especies foliosas *S. ainoae*, *P. berberina* y *P. divulsa*. A partir de 55 PPFD la mayoría de las especies han decaído en más del 50% de su rendimiento fotosintético, resultando *P. divulsa* y *S. caulescens* las especies con mayor y menor porcentaje de decaimiento respectivamente. A 367 PPFD el porcentaje de Yield no presenta diferencias significativas entre especies, en la mayoría de los casos, los porcentajes de Yield no sobrepasan el 5 % del rendimiento fotosintético, a excepción de *P. nitida*.

Los resultados de los ajustes de las curvas entre ETR y PPFD fueron calculados y resumidos en la Tabla 4 y Figura 6. El mejor modelo resultó de una función cuadrática en todos los líquenes: *S. ainoae* ($R^2 = 0,88$), *P. berberina* ($R^2 = 0,95$), *P. nitida* ($R^2 = 0,88$), *P. coerulescens* ($R^2 = 0,78$), *B. australe* ($R^2 = 0,87$), *S. caulescens* ($R^2 = 0,74$), *P. divulsa* ($R^2 = 0,74$), *L. tenerum* ($R^2 = 0,78$). Los valores de PPFD_{sat} *in situ* difieren estadísticamente entre las distintas especies (Figura 6 interior; $p = 0,023$, *ANOVA*, $\alpha = 0,050$). El rango del punto de saturación para los líquenes del bosque mixto fluctuó entre $24,73 \pm 8,51$ y $87,09 \pm 23,2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en *L. tenerum* y *P. nitida* respectivamente (Tabla 4). Los valores de ETR_{max} *in situ* difieren estadísticamente entre las distintas especies (Figura 6 interior; $p = 0,016$, *ANOVA*, $\alpha = 0,050$). Los máximos valores de ETR

fueron registrados a $122 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en *P. coerulescens*, *S. caulescens* y *P. divulsa*. El resto de especies evaluadas presentan los máximos valores de ETR a $183 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figura 6 interior).

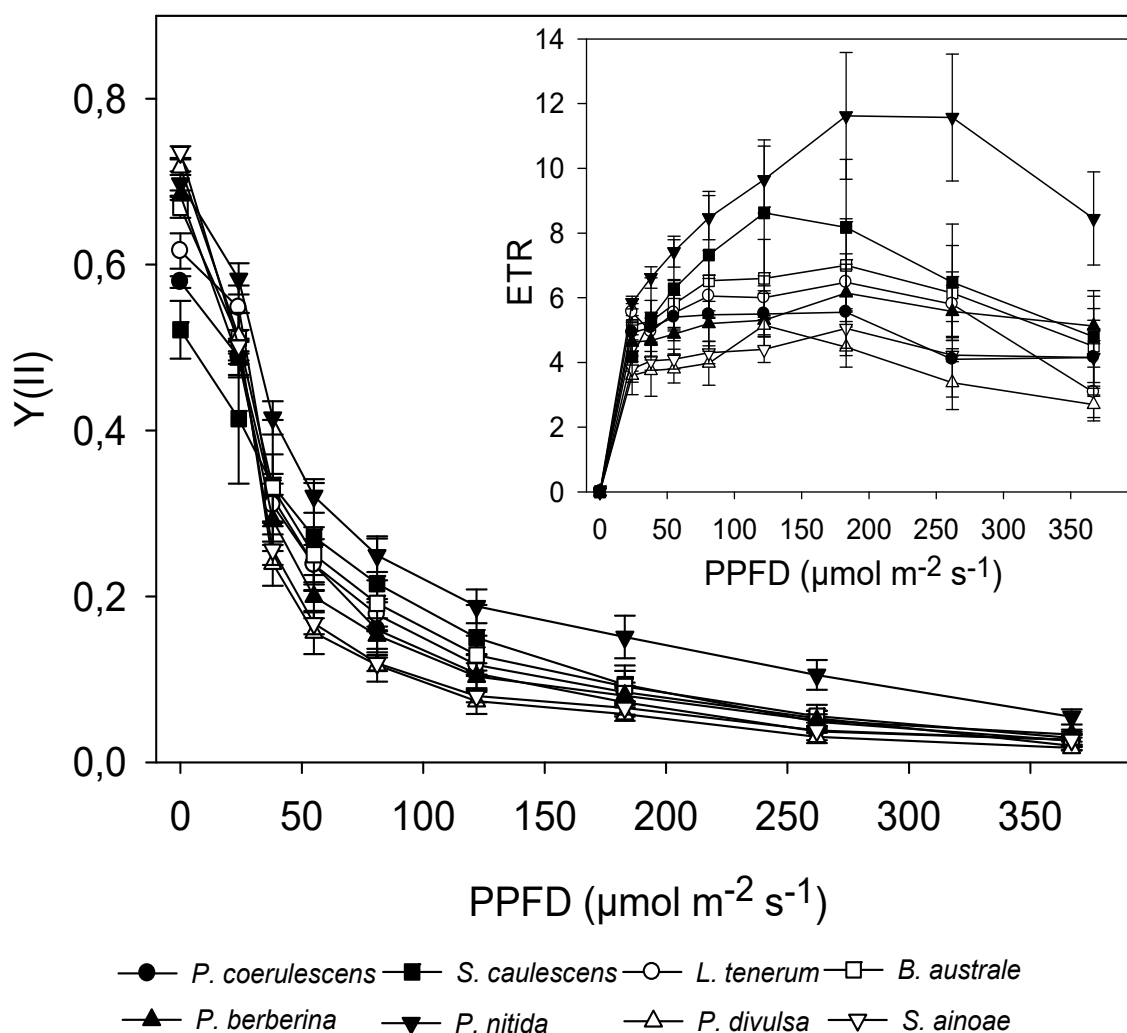


Figura 6. Rendimiento fotosintético efectivo del fotosistema II o Yield $Y(II)$ frente a la radiación fotosintéticamente activa (PPFD) de ocho macrolíquenes epífitos del bosque valdiviano medidos *in situ*. La grafica interior expresa la tasa de transporte de electrones (ETR) frente a la radiación fotosintéticamente activa (PPFD) de las mismas especies. Las intensidades lumínicas incrementan cada 10 segundos a 0, 24, 38, 55, 81, 122, 183, 262 y 367 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Todos los valores aparecen acompañados del error estándar correspondiente. Media \pm ES (n=4).

Tabla 3. Disminución del Yield en porcentaje respecto al valor inicial en oscuridad en todas las especies del estudio a 24, 55 y 367 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Todos los valores aparecen acompañados del error estándar correspondiente. Las diferencias estadísticas fueron realizadas mediante ANOVA $p \leq 0,05$ entre las distintas especies. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas del porcentaje de Yield entre especies.

Especies	Radiación		
	24 $H=15,08; p=0,035$	55 $H=15,93; p=0,026$	367 $\alpha=0,050; p=0,070$
<i>P. coerulescens</i>	84,42 \pm 14,7 a	41,06 \pm 4,9 ab	4,66 \pm 1,3 a
<i>S. caulescens</i>	78,42 \pm 16,8 a	50,98 \pm 11,7 b	4,80 \pm 1,3 a
<i>L. tenerum</i>	89,61 \pm 19,5 a	39,09 \pm 4,9 ab	3,17 \pm 0,7 a
<i>B. australe</i>	76,26 \pm 13,9 a	37,26 \pm 4,7 ab	4,34 \pm 1,4 a
<i>P. berberina</i>	70,96 \pm 9,6 a	29,16 \pm 3,6 ab	4,85 \pm 0,5 a
<i>P. nitida</i>	83,50 \pm 10,5 a	46,19 \pm 3,6 b	7,93 \pm 1,5 a
<i>P. divulsa</i>	71,43 \pm 16,2 a	21,86 \pm 3,7 a	2,44 \pm 0,5 a
<i>S. ainoae</i>	68,30 \pm 12,2 a	22,74 \pm 1,6 ab	3,65 \pm 0,8 a

Tabla 4. Tasa máxima de transporte de electrones (ETRmax), puntos de saturación (PPFDsat) obtenidos del ajuste exponencial de los datos registrados *in situ*. Donde CIL= cianolíquenes, FRT= fruticulosos, FPA= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados, FPE= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados y FOC= líquenes foliosos con cifelas. R^2 ajuste de la curva exponencial simple. Las unidades de PPFD están referidas a $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Todos los valores aparecen acompañados del error estándar correspondiente. Media \pm ES (n=4). Las diferencias estadísticas fueron realizadas mediante ANOVA $p \leq 0,05$ seguido del test post-hoc Tukey's HSD. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre especies.

Grupo funcional	Parámetros / especie	ETRmax $\alpha=0,050; p=0,016$	PPFDsat $\alpha=0,050; p=0,023$	R^2
CIL	<i>P. coerulescens</i>	5,28 \pm 0,91 ab	31,18 \pm 4,11 a	0,78 \pm 0,12
	<i>S. caulescens</i>	7,21 \pm 1,80 ab	53,76 \pm 10,23 ab	0,74 \pm 0,07
FRT	<i>L. tenerum</i>	5,66 \pm 0,69 ab	24,73 \pm 8,51 a	0,78 \pm 0,01
	<i>B. australe</i>	6,36 \pm 1,19 ab	36,56 \pm 4,10 ab	0,87 \pm 0,78
FPA	<i>P. berberina</i>	5,48 \pm 0,72 ab	38,35 \pm 6,83 ab	0,95 \pm 0,02
	<i>P. nitida</i>	10,42 \pm 1,74 b	87,09 \pm 23,2 b	0,88 \pm 0,03
FPE	<i>P. divulsa</i>	4,06 \pm 0,52 a	32,61 \pm 8,75 a	0,74 \pm 0,07
FOC	<i>S. ainoae</i>	4,59 \pm 0,49 a	37,99 \pm 3,37 ab	0,88 \pm 0,05

DISCUSIÓN

A lo largo de este capítulo se han llevado a cabo una serie de experimentos con el fin de comprobar el nivel de adaptación de varias especies de líquenes epífitos de un bosque siempreverde costero a las características de humedad y radiación típicas de su entorno. La respuesta de los organismos después de transformaciones de su medio refleja su capacidad de adaptación en términos de su plasticidad fisiológica y morfológica (Lakatos *et al.*, 2006). Los líquenes del bosque siempreverde tratados han resultado ser sensibles al tratamiento de desecación prolongada, expresando una respuesta específica por especie, con una rápida alteración fotosintética en la exposición temporal, principalmente en el grupo de líquenes CIL (cianolíquenes). El experimento de resistencia a la desecación ha mostrado también un incremento significativo en los valores de fluorescencia basal a lo largo del periodo de estudio en todas las especies, así como una disminución de impacto variable vinculado a cada especie en la composición de pigmentos. Respecto al estudio de las relaciones hídricas, se ha observado como *S. ainoae* se desmarca con claridad respecto a las demás en relación a la capacidad de retener agua. En relación al experimento específico de tolerancia a distintos niveles de luz, el parámetro Y(II) ha mostrado una clara disminución frente a la exposición de radiaciones no saturantes para líquenes de zonas más expuestas de forma generalizada en todas las especies. Otros parámetros relevantes indicadores de adaptación a la luz como el ETRmax y el PPFDsat han mostrado una respuesta en la misma dirección, pero con un componente variable y específico por especie.

Desecación

Habitualmente se generaliza en que los líquenes son altamente tolerantes a la desecación, un excelente ejemplo de esta capacidad de supervivencia sin efectos secundarios aparentes y con recuperación completa de sus fotosistemas y fotosíntesis ha sido registrada en líquenes expuestos a condiciones de espacio exterior (Sancho *et al.*, 2007; Raggio *et al.*, 2011). Tiempos de supervivencia a largos periodos de desecación también han sido registrado en *Ramalina maciformis* con más de un año de exposición a desecación al 1% de contenido hídrico (Lange, 1969). Sin embargo, como han comentado Green *et al.*, (2011) quizás como grupo en general se adaptan a periodos cortos de desecación pero no sobreviven si la desecación se prolonga en el tiempo. Nuestros resultados coinciden con esta idea ya que indican que la mayoría de las especies de líquenes tratadas son sensibles a la desecación prolongada dentro del rango de estudio. La característica siempreverde del follaje genera un microhábitat dentro del área de trabajo que aseguran una baja radiación durante todo el año (Woda *et al.*, 2006), lo que da lugar a una alta humedad a nivel del suelo y una baja evaporación. Este tipo de microclima es comparable a los

estudiados realizados en Nueva Zelanda por Green *et al.*, (1991) y Green *et al.*, (1997). Los tiempos de supervivencia presentados por estos autores muestran el otro extremo de tolerancia a la desecación por ejemplo, Green *et al.*, (1991) estudiaron y mostraron una alta mortalidad en el clorolíquen *Pseudocyphellaria dissimilis* (natural de bosque de lluvia) en la cordillera Hakarimata (Nueva Zelanda). Esta especie mostró una adaptación a la sombra que incluyó alta sensibilidad a la desecación cuando se exponía a períodos cortos (20 horas) en equilibrio al 5-16% de humedad relativa.

En cuanto a nuestros resultados la respuesta de los cianolíquenes (*Pseudocyphellaria coerulescens* y *Sticta caulescens*) confirman alta fragilidad frente a la simulación de cambio de las relaciones hídricas traducidas en una disminución rotunda del rendimiento fotosintético (Fv/Fm) a trece días de exposición a estrés (Figura 4). El porcentaje de disminución del rendimiento fotosintético potencial fue del 59% para *P. coerulescens* y del 50% en el caso de *S. caulescens*. En diferentes estudios este grupo de líquenes ha resultado más sensible al estrés ambiental que clorolíquenes (Demmig-Adams *et al.*, 1990; Kranner *et al.*, 2003). Una posible explicación a esto es que la reactivación del metabolismo en clorolíquenes ocurre a partir de la captación de vapor de agua del medio en el que se encuentran cuando la humedad relativa es alta (Lange & Kilian, 1985; Pintado & Sancho, 2002). Por el contrario, la activación de cianolíquenes solo se producirá en presencia de agua líquida (Lange *et al.*, 1993b; Green *et al.*, 1994). Debido a esta fragilidad diagnosticada en cianolíquenes nuestros resultados apoyan a Gatica *et al.*, (2011) en la utilización de este grupo de líquenes como indicadores de ambientes inalterados, reforzando la idea de elevada especificidad por su ambiente en este grupo. A continuación líquenes fruticulosos y las especies del grupo FPA presentan un decaimiento similar a 21 días de estrés sin capacidad de recuperación pese a la homogeneización del sistema en la cámara climática. Los porcentajes de pérdida de Fv/Fm oscilaron en estas especies entre el 28% en *Bunodophoron australe* y el 15% en *Pseudocyphellaria nitida*. Pese a que este grupo de especies coinciden ecológicamente en la zona media del fuste se esperaba que las especies foliosas fuesen una de las especies más tolerantes a la desecación prolongada ya que muchos ejemplares se desarrollan en la zona más expuestas del área de estudio y entendemos, presentarían mayores ciclos de deshidratación y en general un perfil de adaptación que reflejase una respuesta a una menor humedad. Sin embargo, resultaron ser sensibles a las condiciones de estrés llevadas en este experimento. Finalmente las especies más resistentes resultaron ser *Pseudocyphellaria divulsa* y *Sticta ainoae* (Figura 4). Ambas crecen en la zona más sombría del bosque (Capítulo 1) por lo que esperábamos fuesen menos tolerantes a la desecación. Sin embargo, mostraron un decaimiento en su rendimiento a partir del día 51 reduciendo Fv/Fm en un 61% en el caso de *S. ainoae* y un 49% en *P. divulsa*. Además *Sticta ainoae*,

presentó el periodo de actividad metabólica más prolongado, diferenciándose del resto de grupo del experimento. En este sentido, la falta de patrón al respecto en el resto de especies, con comportamiento similar en la duración de su periodo de actividad y distintos niveles de sensibilidad a la desecación apunta a una falta de relación clara entre estos parámetros en la zona de estudio. El porcentaje de retención de agua de cada especie tampoco mostró vínculos claros con la resistencia a la desecación. Como se observa en estos resultados 1. la tolerancia a la desecación varía entre especies y 2. existe una segmentación en la respuesta a la resistencia a la desecación que responde al grupo funcional separando cianolíquenes del resto de clorolíquenes, y, no se registró una vinculación entre la resistencia a la desecación 3. el % de saturación de agua no está relacionado con el tiempo que tardan las distintas especies en llegar al óptimo de manera clara y, 4. no se ha observado un patrón claro que vincule microhábitat y resistencia a la desecación.

Con respecto al análisis de pigmentos los valores aquí obtenidos se encuentran dentro del rango medido en clorolíquenes de bosque lluvioso templado (Green *et al.*, 1997). El efecto al estrés a menudo se evalúa mediante la estimación de fotosíntesis neta o fluorescencia de la clorofila como respuesta del fotobionte, por lo que alteraciones en la concentración de clorofila resultan fundamentales para su evaluación. Por ejemplo, Kranner *et al.*, (2003) evaluaron la capacidad de tolerancia a la desecación de *Pseudevernia furfuracea*, *Lobaria pulmonaria* y *Peltigera polydactyla* después de permanecer 9 semanas desecadas. Estos autores calcularon una pérdida de clorofila en ese periodo del 45 y 40 % en *L. pulmonaria* y *P. polydactyla*, respectivamente. Sin embargo, en *P. furfuracea* la desecación a largo plazo no afectó a la concentración de clorofilas coincidiendo estos resultados con que la capacidad de recuperación de la fotosíntesis neta en *P. furfuracea* no se veía afectada durante el periodo de estrés pero si se retrasó en *P. polydactyla* e incluso más en *L. pulmonaria*. Nuestros resultados coinciden con los registrados en *L. pulmonaria* y *P. polydactyla* en todas las especies menos en las del grupo CIL (Tabla 2). La degradación de pigmentos que experimentan los talos concuerda con la reducción de Fv/Fm pese al periodo de aclimatación otorgado en la cámara climática. En este sentido, luego de 9 semanas de permanecer en condiciones de estrés las especies fruticulosas especialmente *Leifidium tenerum* perdieron un 86% y 85% de clorofila y carotenos, respectivamente. En tanto, los líquenes foliosos en general pierden alrededor del 30% en ambos pigmentos, sin embargo, solo *Sticta ainoae* y *Pseudocyphellaria berberina* presentaron diferencias entre las muestras del tiempo cero y luego de 71 días de desecación (Tabla 3). Finalmente, *Sticta caulescens* y *P. coerulescens* (cianolíquenes) presentaron un porcentaje de pérdida temporal no significativo por lo que se sugiere un análisis más detallado de esta especie que expliquen el fuerte decaimiento de Fv/Fm. Con lo anterior, observamos que la

disminución de la concentración de clorofila entre las especies respecto a la tolerancia a la desecación no es homogénea a 71 días de estrés, y no muestra un patrón generalizado entre las especies coincidiendo en este aspecto con Kranner *et al.*, (2003).

En general, cualquier proceso de estrés en los organismos fotosintéticos puede producir una disminución de la relación F_v/F_m . Sin embargo, podría resultar frágil si se utiliza como el único factor para evaluar estrés en plantas (Force *et al.*, 2003). La reducción de F_v/F_m se ha relacionado en dos procesos diferentes 1. Un incremento en la disipación térmica por exceso de energía luminosa a nivel del fotosistema II. La eficiencia en los procesos fotoquímicos cae y es reflejada por una disminución en la relación F_v/F_m , proceso que va acompañado de un mantenimiento o caída de la señal de fluorescencia basal (F_0) e indica un aumento de la atenuación fotoquímica de la fluorescencia y una mayor fotoprotección (Tambussi, 2004). 2. Por fotoinhibición la que va asociada con daños en los centros de reacción del PSII (Demming-Adams, 1990). La fotoinhibición es un fenómeno dependiente de la luz (e influido por otros tipos de estrés, como el hídrico) en los procesos fotoquímicos primarios, que es lentamente reversible y que suele ir acompañado por un aumento de la fluorescencia basal (F_0 ; Gauslaa & Solhaug, 1996) (aunque no siempre es observado, por ejemplo en *Pseudocyphellaria berberina*; Tabla 1). En nuestro trabajo se observa una disminución de F_v/F_m durante el periodo de desecación, acompañado de un aumento de F_0 . Este comportamiento es evidente durante todo el tratamiento por lo que se infiere que el estrés hídrico podría estar generando un aumento de la fotoinhibición. Este hecho, unido a la disminución en la concentración de pigmentos en muchas de las especies, parece ser los factores determinantes para explicar la bajada de F_v/F_m a lo largo del experimento en las muestras estudiadas.

Respuesta a la luz

El objetivo de esta sección fue determinar si algunas de las especies de líquenes estudiadas son más afectadas para llevar a cabo la fotosíntesis si las condiciones microclimáticas cambiasen y que este cambio conllevara una mayor intensidad de luz. Para hacer una comparación entre ellos, se calcularon PPFD_{sat} y ETR_{max} obtenidos del ajuste de las curvas de respuesta de luz (Rascher *et al.*, 2000). Los resultados obtenidos sugieren una adaptación a bajas radiaciones en el caso de los líquenes del bosque siempreverde, por lo que un aumento en la intensidad de luz podría ser perjudicial para los líquenes estudiados. Esto también es apoyado por los valores en porcentaje de Yield (II) respecto al valor inicial en oscuridad (Tabla 3), ya que los valores en todo el set de especies decaen a partir de $55 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (una radiación inferior al punto de compensación en diversos líquenes adaptados a zonas expuestas, Pintado *et al.*, 2005; Reiter *et al.*, 2008; Raggio,

2013) en más del 50% del Yield. Además, presentan una respuesta homogénea, ya que las únicas diferencias relevantes encontradas entre especies para este parámetro fue para la comparación *P. divulsa* frente a *S. caulescens* y *P. nitida* (Tabla 3).

Los puntos de saturación de luz obtenidos de esta investigación a través de medidas de fluorescencia (Tabla 4; con máximos de $87,09 \pm 23,2 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en *Pseudocyphellaria nitida*) coinciden con los obtenidos en líquenes adaptados a las condiciones de sombra en el interior del bosque por Lakatos *et al.*, (2006) y Pardow *et al.*, (2010). Las especies del bosque siempreverde resultaron sensibles a la alta radiación y presentan adaptaciones típicas de especies de sombra, sin embargo algunas de ellas mostraron mayor plasticidad a la hora de la exposición lumínica (por ejemplo, *P. nitida*, Tabla 4). En este tipo de bosque siempreverde las epífitas, entre estas los helechos (Hymenophyllaceae) y líquenes foliosos son más frecuentes y abundantes en sitios oscuros (Woda *et al.*, 2006). Se ha determinado que la luz indirecta estimula el crecimiento de los líquenes (Gauslaa *et al.*, 2007). En contraste, una fuerte exposición afecta adversamente su crecimiento (Gauslaa & Goward, 2012). Sin embargo, un corto fotoperiodo producto de lo sombrío del ambiente hacen que los destellos de luz solar o sunflecks intensos pero de corta duración puedan tener efectos positivos (Lakatos *et al.*, 2006). Esto sumado a la estabilidad de las condiciones microclimáticas de este tipo de ambientes, en donde la disponibilidad de agua es continua por altas precipitaciones (lluvia y niebla, Woda *et al.*, 2006) probablemente amplíen la actividad metabólica de alguno de estos líquenes (por ejemplo, *S. ainoae*).

Por otra parte, los valores de ETR aumentan en función de PPFD, sin embargo, la actividad decae a radiaciones especialmente bajas en todo el set estudiado, inhibiéndose a $180 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en la especie más resistente (*P. nitida*) (Figura 6 interior y Tabla 4). Esta inhibición es interpretada como una interrupción en el transporte de electrones por lo que concluimos cierto daño a mayor radiación del aparato fotosintético. *Pseudocyphellaria nitida* presentó la mayor adaptación a altas radiaciones con la mayor tasa de ETR. Además saturó más tarde que todo el set analizado. Pese a esto, desde la Tabla 4 se observa que en todas las especies los máximos valores de ETRmax no se obtuvieron a máxima radiación, lo que nos sugiere fotoinhibición generalizada. Por otra parte, los valores de la ETRmax indican que pese a esta ligera ventaja en *P. nitida* las especies coexisten por lo que parece que las estrategias de todo el set resultan exitosas en este medio siempreverde reflejado en los altos valores de cobertura registrado en estas especies (Capítulo 1).

Los valores de ETRmax obtenidos en este estudio fluctuaron entre $4,06 \pm 0,52$ en *Pseudocyphellaria divulsa* y $10,42 \pm 1,74$ en *Pseudocyphellaria nitida*. A excepción de *P. nitida* los valores

ETR max son similares a los registrados por Pardow *et al.*, (2010) quienes estudiaron dos grupos de líquenes crustáceos de bosques tropicales en Brasil. Estos fueron divididos según la presencia o ausencia de córtex superior obteniendo valores de ETRmax que fluctuaron entre 4,6 y 1,8. Valores levemente superiores fueron obtenidos por Lakatos *et al.*, (2006) quienes estudiaron cuatro especies de líquenes crustáceos en un bosque siempreverde tropical en Guayana Francesa donde los valores oscilaron entre *Phyllopsora corallina* con un valor ETRmax= 7,52, *Cryptothecia rubrocincta* con ETRmax= 7,55, *Thelotrema albolivaceum* con ETRmax= 10,2 y en *Coenogonium linkii* un ETRmax de 14,8. Estos valores de ETRmax son menores que los obtenidos para líquenes de zonas expuestas como las registradas en el líquen fruticuloso *Stereocaulon foliolosum* (Munsiyari, en Himalaya occidental a 3,500 metros de altura) que presentó un ETRmax de 45 o en el líquen epilítico crustoso *Lecanora muralis* (Darmstadt, Alemania) evaluada en diversas condiciones climáticas por Lüttge (2013), registrando un valor máximo de ETRmax de 179 en periodo estival a 22°C con lluvia intensa.

A pesar del comportamiento específico de cada especie se han observado dos tendencias como grupo, 1) no existe un patrón claro de adaptación a la alta disponibilidad hídrica, y 2) se observa una tendencia adaptativa a bajas radiaciones. En este sentido, sabemos que las precipitaciones disminuirán significativamente en el centro-sur de Chile, lo que sumado al aumento de temperaturas previsto (IPCC 2014) tendrá como consecuencia una disminución de la disponibilidad hídrica y un aumento de la evapotranspiración. Además, la baja disponibilidad hídrica puede tener efectos perjudiciales para las plantas ya que limita la capacidad de estas de emplear fotosintéticamente la luz que absorbe, lo que es especialmente relevante cuando la disponibilidad lumínica es limitada, como ocurre frecuentemente en el sotobosque del bosque lluvioso templado (Woda *et al.*, 2006). Como se ha observado a lo largo de este capítulo, el estrés hídrico y el estrés lumínico parecen estar vinculados en los líquenes estudiados, por lo que una disminución de la disponibilidad hídrica podría ir vinculada a un aumento de la sensibilidad a la luz y, por tanto, de la fotoinhibición. Ante estos supuestos, sería razonable preguntarse hasta qué punto los líquenes del bosque mixto, que han mostrado una tendencia a estar adaptados a bajos niveles de luz, podrán manejar este estrés lumínico derivado de una posible disminución del agua disponible en el entorno.

Los líquenes presentan mecanismos de protección que previenen o minimizan el estrés y que nos ayudan a interpretar los valores obtenidos. Por ejemplo: modificaciones morfológicas y/o anatómicas, (Gauslaa & Coxon, 2011) que pueden reducir la fracción de luz incidente (transmitancia) como por ejemplo un engrosamiento del córtex superior (Büdel & Lange, 1994), proporcionando mayor protección contra altas radiaciones en algunas especies (Kappen *et al.*,

1998). A nivel celular han sido sugeridos mecanismos bioquímicos como proteínas con función protectora que aumentan durante el proceso de deshidratación (Phillips *et al.*, 2002). También el sistema antioxidante compuesto por flavonoides, azúcares, polioles, prolina y poliaminas protegen a la célula contra el estrés fotooxidativo durante la deshidratación y la rehidratación (Pirintsos *et al.*, 2004; Gasulla, 2009). Mediante la disipación en forma de calor del exceso de energía lumínica que podría generar daños fotooxidativos (Heber *et al.*, 2007). Este proceso implica reacciones con carotenoides que previenen la fotoinhibición (Demmig-Adams & Adams, 1996). Factores como la velocidad de respuesta fisiológica ante los cambios ambientales específica de cada especie y, sobre todo, la intensidad real de la reducción de la disponibilidad hídrica en el interior del bosque, determinarán la capacidad de adaptación de los líquenes estudiados ante cualquier cambio que pueda suceder en el futuro.

CAPÍTULO III

ADAPTACIONES HÍDRICAS Y ANATÓMICAS RELACIONADAS CON LA DISTRIBUCIÓN DE LÍQUENES EPÍFITOS EN BOSQUES TEMPLADOS DEL SUR DE CHILE



INTRODUCCIÓN

Los líquenes son organismos poiquilohídricos lo que significa que no regulan de forma activa la absorción o pérdida de agua, dependiendo y equilibrando completamente con el medio que los rodea en los procesos de captación y pérdida de esta (Green *et al.*, 2011). Los líquenes con algas verdes como fotobionte principal (clorolíquenes), utilizan todas las fuentes de hidratación disponible para reactivar la fotosíntesis (Gauslaa, 2014), incluso su activación puede ser directamente con aire húmedo (Lange *et al.*, 1988). Mientras que los cianolíquenes solo se activan con agua líquida en forma de lluvia o rocío (Lange *et al.*, 1986). Cuando los talos se deshidratan, su actividad metabólica cesa y entran en un estado de latencia transitorio hasta que el metabolismo pueda reanudar la actividad fotosintética en presencia de agua (Green *et al.*, 2007).

El dosel de un bosque atenúa significativamente la cantidad de radiación que llega al piso forestal (Valladares, 2006). Tiene una contribución directa en la fotosíntesis de las plantas y regula indirectamente las características microclimáticas bajo el dosel (temperatura, humedad relativa, etc). Los líquenes que se desarrollan bajo un dosel sombreado presentan un secado más lento, en contraste con las especies de dosel abierto, donde una mayor radiación aumenta la evaporación y en consecuencia la velocidad de desecación (Lange *et al.*, 2004). En este sentido, estudiar las adaptaciones morfológicas que facilitan la captación y pérdida de agua, además de la capacidad de almacenamiento de agua en grupos con diferentes posibilidades hídricas debería ser adecuado para comprender la distribución de estos epífitos en los bosques templados del sur de Chile.

Diferentes autores han descrito rasgos de hidratación asociado con adaptaciones morfológicas, anatómicas y/o aclimatación que nos proporciona información relevante respecto a la eficacia de estos organismos con su entorno (Snelgar & Green, 1981; Sancho & Kappen, 1989; Valladares *et al.*, 1998; MacKenzie & Campbell, 2001). Gauslaa & Solhaug (1998), han proporcionado evidencia morfológica en el control de la tasa de absorción y pérdida de agua. Estos autores encontraron que el desarrollo de un hipotalo más grueso (asociado también a un mayor tamaño) en talos de *Degelia plumbea* aumenta la capacidad de retención de agua. Sugieren además, que la rápida desecación de los talos pequeños podría representar una etapa crítica en el ciclo de vida producto de algún evento (por ejemplo apertura del dosel por tala) que demanda mayor evaporación, radiación y exposición al viento. Por otra parte, Snelgar & Green (1981), han confirmado que la capacidad de almacenamiento de agua (en inglés, WHC *water-holding capacity*) es más alto en talos adaptados al sol que en talos adaptados a la sombra. Estos autores encontraron una estrecha relación entre el grosor del talo y la capacidad de acumulación de agua en la especie *Pseudocyphellaria disimilis* en Nueva Zelanda, mostraron que todos los individuos de hábitat soleado

podrían retener mayor contenido hídrico por unidad de superficie, y por otro lado encontraron diferencias estructurales dentro de una misma especie en función de la aclimatación a condiciones locales.

Como estos organismos no pueden regular la absorción y pérdida de agua, han mejorado su economía hídrica mediante el aumento de su masa específica o masa seca por unidad de área (en inglés STM, *specific thallus mass*). STM es un rasgo funcional controlado por la exposición a la luz (Asplund *et al.*, 2012), resultando más alto en los talos con mayor exposición, es decir, con mayor demanda evaporativa, que en los talos adaptados a la sombra (Gauslaa & Coxon, 2011; Merinero *et al.*, 2015). Además, ha sido definido como un importante impulsor de la capacidad de acumulación de agua en los líquenes (Gauslaa & Coxon, 2011; Merinero *et al.*, 2014), por tanto, ambos parámetros determinan el período de hidratación de los talos (Gauslaa, 2014).

Los líquenes son un componente importante en los bosques templados de Chile (Redon, 1979; Galloway, 1997; Pereira & San Martín, 1998; Pereira *et al.*, 2007; Quilhot *et al.*, 2012; Rubio *et al.*, 2013). Sin embargo, y a pesar de los antecedentes expuestos anteriormente existen escasos trabajos en Chile que pongan de manifiesto esta relación estructura y función en sistemas forestales (Atala *et al.*, 2015). Las comparaciones de STM, WHC y anatómicas en líquenes epífitos tanto de bosques con dosel cerrado como abierto nos ayuda por una parte a conocer los enlaces entre los rasgos de adaptación de estos organismos a diferentes posibilidades hídricas. Es así que hemos seleccionado dos grupos de líquenes epífitos especialmente conspicuos en los bosques templados de Chile. Uno, presente en un bosque siempreverde con un dosel cerrado en la cordillera costera valdiviana (Woda *et al.*, 2006), y un bosque de *Araucaria araucana* en la precordillera de los Andes caracterizado por presentar un dosel más abierto donde buena parte de las precipitaciones son en forma de nieve (Di Castri & Hajek, 1976).

Los objetivos específicos fueron:

- (1) Comparar la capacidad de retención de agua (WHC) y la masa específica del talo (STM) en líquenes foliosos provenientes de dos regiones diferentes.
- (2) establecer la posible relación entre porcentaje de contenido hídrico a saturación (% saturación de agua) y la masa específica del talo (STM).
- (3) Evaluar la cinética de deshidratación de estas especies y su relación con la retención de agua (WHC).

- (4) Determinar si las diferencias anatómicas del talo (grosor del córtex superior, capa algal, médula y córtex inferior) pueden explicar el almacenamiento interno de agua (WHC) en líquenes epífitos de dos áreas diferentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y selección de especies

Se seleccionó un bosque siempreverde del tipo forestal Laurelio-Weinmannietum (Oberdorfer, 1960) (desde aquí en adelante llamado bosque mixto), ubicado en el Parque Nacional Alerce Costero (40° 00' S/73° 25'O, 600 m de altitud), Región de los Ríos, Chile (Figuras 1, 2 y 3). Las características climáticas están abordadas en el Capítulo I. Desde aquí se seleccionaron 5 especies de macrolíquenes foliosos pertenecientes a la familia Lobariaceae (*Sticta caulescens*, *Sticta ainoae*, *Pseudocyphellaria divulsa*, *Pseudocyphellaria berberina*, *Pseudocyphellaria nitida* y *Pseudocyphellaria coerulescens*).

Por otra parte, hemos seleccionado un bosque de *Araucaria araucana* (Mol.) K. Koch. (desde aquí en adelante llamado bosque de araucaria) dentro del Parque Nacional Conguillío, ubicado en la precordillera de Los Andes en la provincia de Cautín (38° 30'S y 71° 30'O; 1215 m de altitud), Región de la Araucanía, Chile (Figuras 1, 2 y 3). Presenta un clima templado-cálido con marcados contrastes entre inviernos prolongados y bajas temperaturas con veranos secos y altas temperaturas. La temperatura media anual es de 8,6 °C, con un promedio de 15,1 °C en enero (mes más cálido) y de 1,9 °C para julio (mes más frío) (Di Castri & Hajek, 1976). La precipitación media anual esta entre los 2.500 a 3.000 mm (Pollmann, 2003), aun cuando gran parte de la precipitación es nival (desde mayo a septiembre). Predominan vientos del sudoeste que traen aire frío del volcán Llaima. Según la representatividad en cuanto a la cobertura en *A. araucana* (Villagra, 2006) se han seleccionado desde la cara sur de esta especie arbórea dos macrolíquenes foliosos pertenecientes a la familia Lobariaceae (*Pseudocyphellaria flavicans* y *Pseudocyphellaria granulata*) y una a la familia Nephromataceae (*Nephroma antracticum*). La figura 2 representa las precipitaciones y temperaturas mensuales en zonas próximas a ambos tipos de bosque: Corral (Región de los Ríos; 39°52'00"S - 73°26'00"O), cercano al bosque mixto y Melipeuco (Región de la Araucanía; 38°51'S 71°42'O) aproximadamente a 21 Km del Parque Nacional Conguillío. La fuente de estos datos han sido obtenidos desde: <https://es.climate-data.org/>.

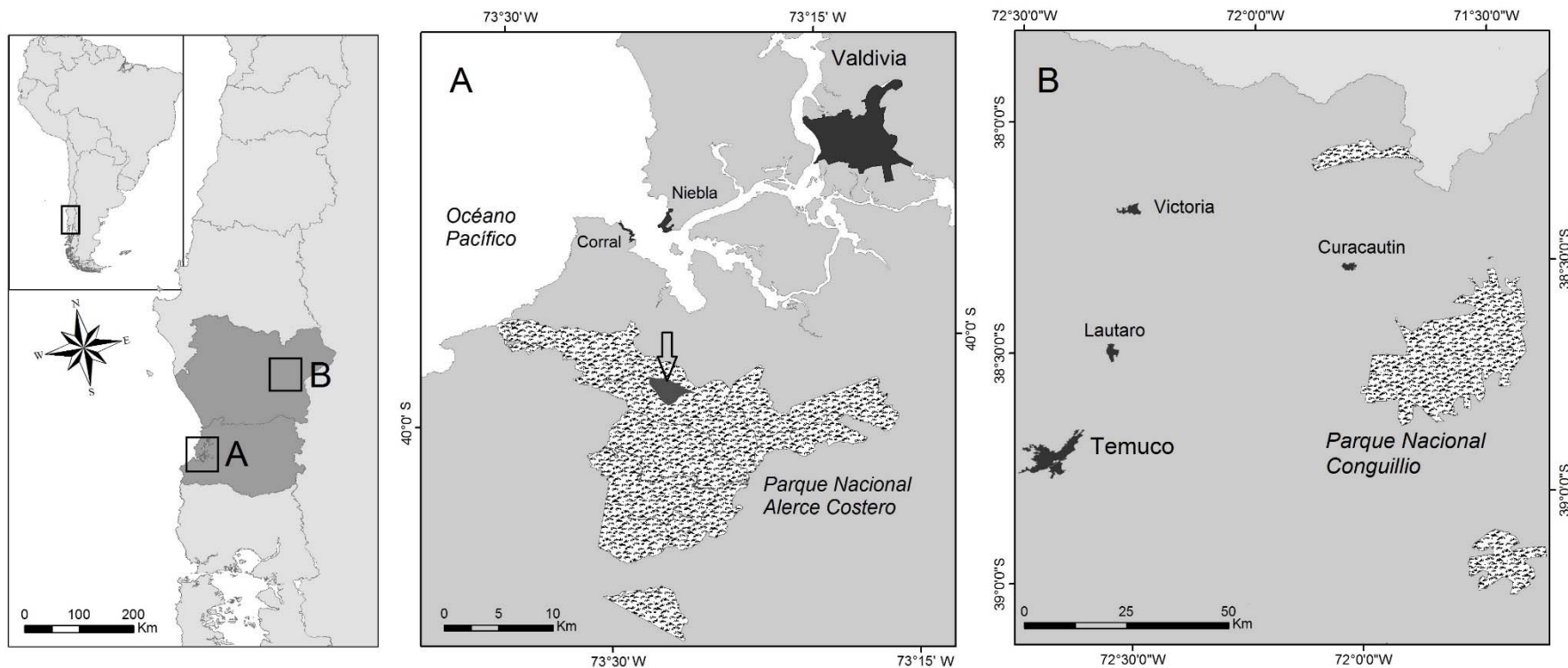


Figura 1. A. Localización del área de estudio en el bosque mixto en el Parque Nacional Alerce Costero (Región de los Ríos, Chile) y B. Localización del área de estudio en el bosque de *Araucaria araucana* en el Parque Nacional Conguillío (Región de la Araucanía, Chile).



Figura 2. Arriba bosque mixto durante el invierno y foto interior con vista hacia el dosel durante el verano (Parque Nacional Alerce Costero). Abajo bosque de *Araucaria araucana* en invierno y foto interior hacia el dosel durante el verano (Parque Nacional Conguillío).

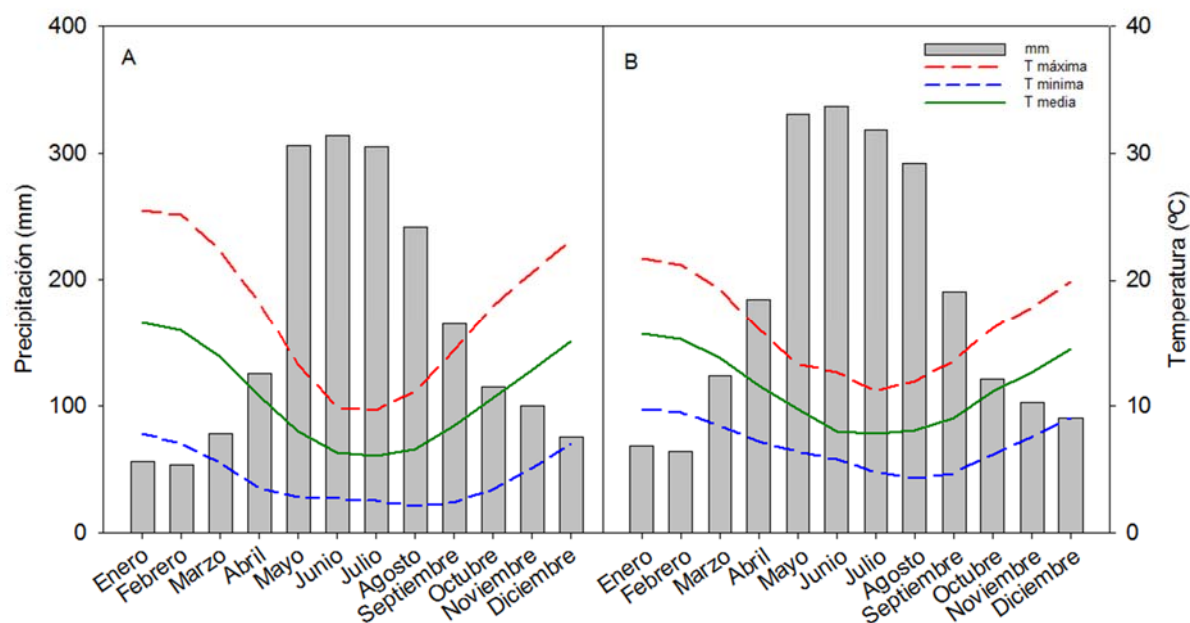


Figura 3. Representación de las precipitaciones y temperaturas mensuales. A. zona próxima al bosque de araucaria (Melipeuco, Región de la Araucanía; 38°51'S 71°42'O). La temperatura media anual es de 10,9°C, las precipitaciones aquí en promedio son de 1937 mm anuales y se concentra en junio, promediando 314 mm. B. zona próxima al bosque mixto (Corral, Región de los Ríos; 39°52'00"S - 73°26'00"O). La temperatura media anual es de 11,5°C, las precipitaciones aquí en promedios son de 2226 mm anuales y se concentran en junio, promediando 337 mm. A la derecha zona próxima. Fuente de datos: <https://es.climate-data.org/>

Biomasa y relaciones hídricas del talo

Los líquenes fueron colectados directamente de la corteza de los árboles un número de 5 ejemplares por especie. Todos los ejemplares una vez colectados fueron secados en una habitación con corriente natural de aire por 2 días y almacenados en un sobre de papel y transportados hasta el Departamento de Biología Vegetal II, Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid (España). Una vez en el laboratorio los talos fueron situados en una cámara de crecimiento Fitotron® SGC 120 (Reino Unido) por un día con el fin de homogeneizar el estado fisiológico de las muestras. Los talos fueron revitalizados pulverizándolos con agua mineral hasta la saturación con un fotoperiodo de 12h en oscuridad a 10°C y 12h a 100 mol⁻²s⁻¹ de luz fotosintéticamente activa (PPFD) a 15 °C.

Para los experimentos de contenido hídrico se utilizaron cinco ejemplares por especie. Los cuales fueron hidratados a saturación y pesados en una balanza de precisión (Sartorius, Alemania,

10 mg-220 g) para conocer el máximo contenido hídrico (en inglés, WC “water content”). Las muestras fueron evaluados bajo condiciones controladas por un sistema de minicubeta CMS400 (Walz, Alemania) a una radiación constante de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (ya que consideramos que en condiciones naturales no sería saturante para los fotosistemas), 15 °C de temperatura, 80% de humedad relativa y un flujo de aire de 0.6 l min^{-1} . En este proceso a cada ejemplar se le realiza un seguimiento de deshidratación en el que cada 20 minutos eran pesados hasta que llegaban al 50 % de su máximo contenido hídrico. La masa seca de las muestras fue calculada a partir de la masa obtenida en estufa a 100 °C durante 24 horas (en inglés, DM “dry mass”).

Las medidas del área (A) de cada talo fueron realizadas con los ejemplares completamente hidratados y para su estimación se utilizó el programa de ordenador Image J. La masa específica del talo (en inglés STM “specific thallus mass”) y la capacidad de retención de agua (en inglés WHC “water-holding capacity”) fueron evaluadas según Gauslaa & Coxson (2011), donde, la masa específica de talo se calculó para cada individuo como $\text{STM (mg DM x cm}^{-2}\text{)} = \text{DM/A}$. La capacidad de retención de agua como $\text{WHC (mg H}_2\text{O x cm}^{-2}\text{)} = (\text{WC-DM})/\text{A}$. Por último, el porcentaje de saturación de agua (%WC) fue obtenido según el porcentaje de masa seca = $[(\text{WC-DM}) \times 100]/\text{DM}$.

Medidas anatómicas

Se han seleccionado cinco ejemplares por especie del bosque mixto y del bosque de araucaria. Estos talos fueron hidratados por 3 horas con agua mineral y posteriormente seleccionados dos lóbulos por ejemplar, los que a su vez fueron divididos en tres secciones con el fin de obtener una mayor representatividad del grosor total de las especies. Así las secciones fueron identificadas como zona apical, zona media y zona basal. Posteriormente cada sección fue fragmentada con una cuchilla de afeitar en trozos de 2 mm bajo una lupa binocular Leica (Wild M8) a 40 aumentos los que luego fueron cubiertos en un medio embebedor de tejidos (Tissue-Teck 4883). Posteriormente estas secciones eran montadas en un micrótomos de congelación Slee MTC (Maguncia) a -21°C en donde se realizaron cortes de tipo transversal y de grosor establecido a 17 μm . Estos fragmentos fueron recogidos y montados en agua para su observación e inmediata medida. Para ello utilizamos un microscopio de campo claro Nikon Eclipse 80i el cual presenta acoplada una cámara Nikon DS-Fi1+DS-L1 con el cual se realizaron las fotografías microscópicas utilizando el método de campo claro y el efecto de contraste Nomarski a 200 aumentos (Figura 4).

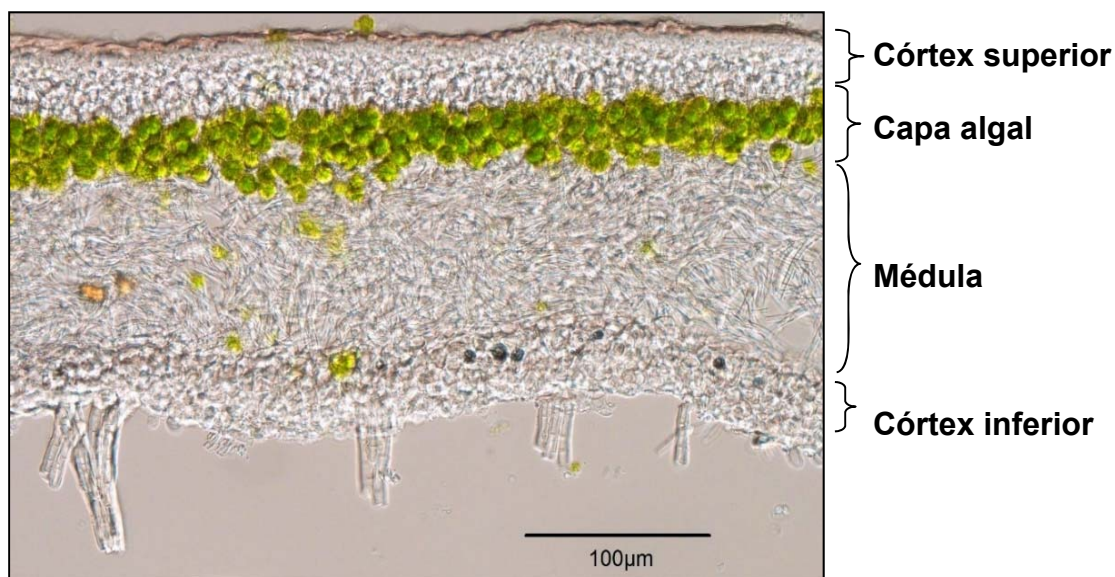


Figura 4. Identificación de secciones (córtex superior, capa algal, médula, córtex inferior) de un corte anatómico transversal realizado por micrótopmo de congelación Slee MTC (Maguncia).

Análisis estadístico

Todos los datos fueron comprobados con la prueba de normalidad y de homogeneidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homogeneidad Levene, respectivamente. Cuando los supuestos se cumplían realizamos un test ANOVA de una vía seguido del análisis a posteriori de Tukey. Cuando algunos de estos supuestos no se cumplían, aplicamos el test no paramétrico de Kruskal-Wallis seguido por el análisis a *posteriori* Tukey. El paquete estadístico utilizado en estos análisis fue el programa Statsgraphic versión 5.1. Para los análisis de regresión lineal, ajuste de curvas y nube de puntos se utilizó el programa Sigmaplot 11.0.

RESULTADOS

Biomasa y relaciones hídricas del talo

Las especies del bosque mixto y las especies del bosque de araucaria han mostraron diferencias en la masa específica del talo (STM), en la capacidad de retención del contenido hídrico (WHC) y en la cinética de deshidratación de las especies. Se establece un patrón permanente separando a las especies del bosque mixto con valores menores de STM, WHC y una mayor velocidad del secado de los talos.

La masa seca (DM) de las especies del bosque mixto y de araucaria presentaron diferencias que se detallan en la Tabla 1 (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,0001$; $H = 37,36$; $gl = 7$). Todas las especies del bosque de araucaria presentan valores más altos de masa seca (DM) que las especies del bosque mixto. La masa específica del talo (STM) de los líquenes del bosque mixto y de araucaria presentaron diferencias entre las especies que se detallan en la Tabla 1 (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,0001$; $H = 34,22$; $gl = 7$). Todas las especies del bosque de araucaria presentan valores más altos de STM que las especies del bosque mixto (Tabla 1).

Por otra parte, dentro de las especies del bosque mixto el mayor valor de este parámetro lo presentó el cianolíquen *Sticta caulescens*, y se diferenció junto con *P. berberina* de *P. divulsa* (especie con menor valor de STM) cuando el análisis se realizó solo en esta unidad boscosa. ($p = 0,03$, *ANOVA*, $\alpha = 0,05$).

En cuanto a la capacidad de retención de agua (WHC), las especies del bosque mixto y de araucaria presentaron diferencias que se especifican en la Tabla 1 (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,0001$; $H = 31,923$; $gl = 7$). Los valores más bajos fueron registrados en las especies del bosque mixto, y solo *P. flavicans* (bosque de araucaria) coincidió estadísticamente con las especies del bosque mixto. Desde la evaluación por tipo de bosque, las especies del bosque mixto no se diferenciaron entre ellas mostrando una mayor compactación en el parámetro ($p = 0,08$, *ANOVA*, $\alpha = 0,05$). Sin embargo en las especies epífitas de araucaria *P. granulata* y *P. flavicans* se diferenciaron estadísticamente ($p = 0,001$, *ANOVA*, $\alpha = 0,05$). Se estableció una relación lineal positiva y significativa ($p < 0,001$) entre WHC y STM en el conjunto de especies de ambos bosques, en donde STM representa el 91% de la variación de WHC (Figura 5). Desde la figura se observa claramente como las especies del bosque mixto se compactan en la parte inferior de la gráfica.

El porcentaje del contenido hídrico a saturación (% saturación de agua) de las especies del bosque mixto y de araucaria presentaron diferencias detalladas en la Tabla 1 ($p < 0,0001$, *ANOVA*, $\alpha = 0,05$). El porcentaje de saturación de agua (% saturación de agua; Figura 6) disminuyó a medida que aumentó STM ($R^2 = 0,49$; $p < 0,001$). En esta gráfica es posible observar que las especies del bosque mixto se restringen a la izquierda de esta, sin solaparse con ninguna especie del bosque de araucaria.

Tabla 1. Biomasa y relación hídrica de las especies estudiadas.

Bosque	Especies	n	Biomasa y relación hídrica del talo				
			Peso seco DM (mg)	STM (mg DM * cm ⁻²)	WHC (mg H ₂ O * cm ⁻²)	% saturación de agua	Tiempo de deshidratación en minutos
mixto	<i>Pseudocyphellaria divulsa</i>	5	783,9 ± 13,0 cd	9,9 ± 0,3 a	29,8 ± 0,8 ab	300,4 ± 11,3 d	85 ± 5 a
	<i>Sticta ainoae</i>	5	988,0 ± 22,2 d	10,5 ± 0,4 a	30,5 ± 1,5 ab	291,8 ± 11,9 d	120 ± b
	<i>Pseudocyphellaria nitida</i>	5	451,3 ± 86,1 ab	11,6 ± 0,3 a	26,9 ± 2,0 ab	231,8 ± 13,7 bc	95 ± 9,6 ab
	<i>Pseudocyphellaria berberina</i>	5	696,2 ± 14,5 bc	12,0 ± 0,4 ab	25,9 ± 1,3 a	215,8 ± 4,9 abc	90 ± 5,6 a
	<i>Sticta caulescens</i>	5	410,0 ± 16,9 a	12,1 ± 0,5 ab	30,6 ± 1,0 ab	255,3 ± 11,6 cd	80 ± 0 a
araucaria	<i>Pseudocyphellaria flavicans</i>	5	2501,8 ± 65,1 e	18,4 ± 0,3 b	39,7 ± 2,1 bc	215,1 ± 9,1 abc	160 ± 0 c
	<i>Nephroma antarcticum</i>	5	2629,0 ± 37,2 e	25,9 ± 2,3 c	47,9 ± 3,5 c	186,3 ± 7,1 a	240 ± 0 d
	<i>Pseudocyphellaria granulata</i>	5	3244,8 ± 123,8 f	33,9 ± 2,9 d	69,5 ± 6,5 d	205,3 ± 6,1 ab	170 ± 10 c

Finalmente, las especies del bosque mixto y de araucaria presentaron diferencias entre ellas (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks; $p < 0,001$; $H = 28,40$; $gl = 7$) respecto a la deshidratación de los talos y al tiempo que necesitan para llegar al 50 % de su máximo contenido hídrico. *Sticta caulescens* y *Pseudocyphellaria divulsa* (ambas especies del bosque mixto) se secan con mayor rapidez (80 y 85 minutos, respectivamente) mientras que *Pseudocyphellaria granulata* y *Nephroma antarcticum* (ambas del bosque de araucaria) necesitaron más del doble de tiempo (170 y 240 minutos respectivamente) para la misma pérdida de agua. Cuando el análisis se realiza por tipo de bosque, *S. ainoae* se diferencia de todas las especies del bosque mixto (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks; $p < 0,019$; $H = 11,34$; $gl = 4$). Mientras que dentro del bosque de araucaria *P. granulata* se diferenciò de *P. flavicans* (Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks; $p < 0,011$; $H = 9,8$; $gl = 2$).

Anatomía del talo

Existen diferencias anatómicas entre las especies del bosque mixto y las del bosque de araucaria que podrían explicar diferentes adaptaciones a las condiciones ambientales en que se desarrollan. Las medidas del grosor total en las especies del género *Sticta* y *Pseudocyphellaria* fueron similares a los trabajos de Galloway (1992, 1994) y en *Nephroma antarcticum* según White & James (1988). Las descripciones anatómicas de las especies se detallan en el Anexo 1. Los líquenes del bosque de araucaria presentaron un grosor total (μm) mayor que las especies del bosque mixto. Las diferencias entre especies se encuentran en la Tabla 2 ($p < 0,001$, ANOVA, $\alpha = 0,050$). El detalle anatómico por cada capa se desarrolla a continuación:

Córtex superior, las especies del bosque de araucaria presentan un córtex más grueso que las especies del bosque mixto, a excepción de *Pseudocyphellaria nitida* (Tabla 2) especie que destaca

en ambos bosques y se diferencia estadísticamente de todo el set valdiviano pero no de las especies del bosque de araucaria ($p < 0,001$, *ANOVA*, $\alpha = 0,050$).

En la **capa algal** se observa que las tres especies del bosque de araucaria presentan el mayor grosor de esta capa. *Pseudocyphellaria granulata* y *Nephroma antarcticum* presentan diferencias estadísticamente significativas con todas las especies del bosque mixto (Tabla 2). Sin embargo, *Pseudocyphellaria flavicans* solo se diferenció de *Pseudocyphellaria divulsa* y *Pseudocyphellaria berberina* (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H = 31,662$; $gl = 7$).

En cuanto a la **médula**, las tres especies del bosque de araucaria presentaron un mayor grosor en esta capa. *P. granulata* y *P. flavicans* se diferencian con todas las especies del bosque mixto ($p < 0,001$, *ANOVA*, $\alpha = 0,050$), en tanto *Nephroma antarcticum* solo se diferenció de *P. divulsa*, *Sticta caulescens* y *Sticta ainoae* (especies con menor grosor de esta capa en el bosque mixto; Tabla 2).

Finalmente, el grosor del **córtex inferior** fue mayor en las especies del bosque de araucaria que las del bosque mixto, a excepción de *Pseudocyphellaria nitida* (Tabla 2) especie que destaca en ambos bosques y se diferencia estadísticamente de todo el set valdiviano pero no de las especies del bosque de araucaria ($p < 0,001$, *ANOVA*, $\alpha = 0,050$).

La Tabla 3 muestra las correlaciones entre capacidad de acumulación de agua (WHC) y los rasgos anatómicos de las especies estudiadas. Esta variable se correlaciona positivamente ($p < 0,01$) con el córtex superior, capa algal y la médula. Sin embargo, WHC presentó una mayor correlación con la capa algal ($R_{sq} = 69,47$).

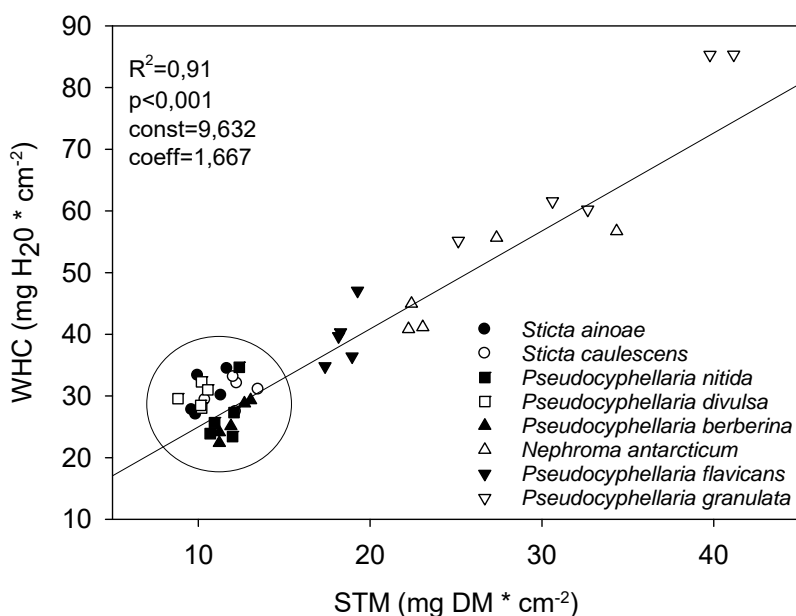


Figura 5. Relación entre capacidad de acumulación de agua (WHC) y peso seco por área del talo (STM) para 5 especies del bosque mixto (dentro del círculo) y tres especies del bosque de araucaria. (n=5).

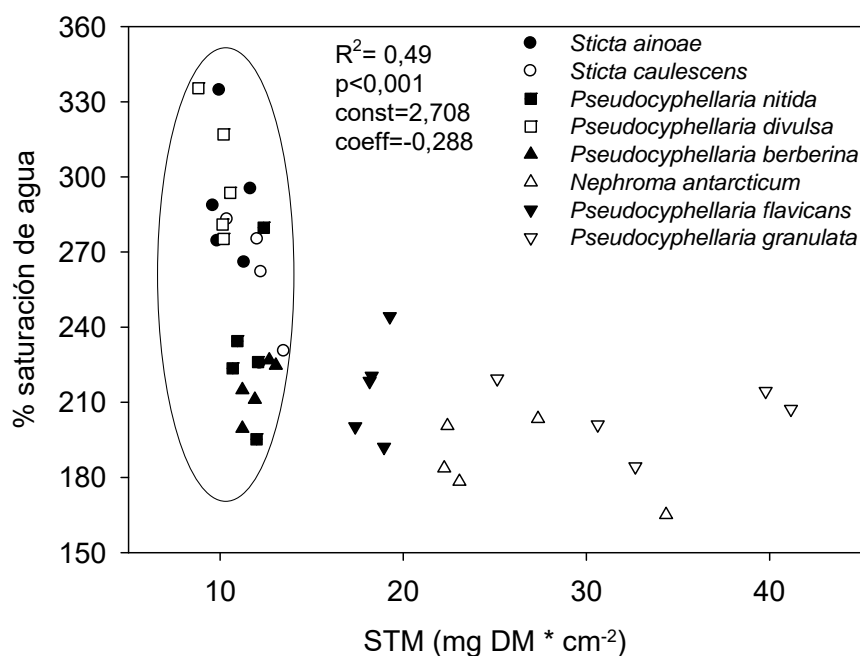


Figura 6. Relación entre porcentaje de saturación de agua y peso seco por área del talo (STM, mg DM x cm⁻²) para 5 especies del bosque mixto (dentro del círculo) y tres especies del bosque de araucaria. (n=5). La regresión lineal se realizó transformando los datos en ln.

Tabla 2. Listado de especies de macrolíquenes del bosque mixto y del bosque de araucaria frente al grosor total del talo, córtex superior, capa algal, médula y córtex inferior. Las medidas están dadas en micras (μm).

Bosque	Especies	n	Grosor total μm	Grosor de las distintas capas μm			
				Córtex superior	Capa algal	Médula	Córtex inferior
mixto	<i>Pseudocyphellaria divulsa</i>	60	175,4 ± 9,6 a	30,01 ± 0,81 a	33,21 ± 0,75 a	88,88 ± 3,70 a	23,28 ± 0,98 a
	<i>Sticta ainoae</i>	60	266,9 ± 31,8 bc	39,04 ± 1,23 b	41,43 ± 1,68 ab	147,60 ± 6,14 ab	38,82 ± 1,51 cd
	<i>Pseudocyphellaria nitida</i>	60	311,4 ± 10,1 c	53,83 ± 1,36 c	39,44 ± 1,03 ab	172,60 ± 7,84 bc	45,55 ± 1,45 d
	<i>Pseudocyphellaria berberina</i>	60	301,8 ± 16,1 c	34,13 ± 0,95 ab	34,72 ± 0,82 a	201,09 ± 7,29 bcd	31,36 ± 0,79 abc
	<i>Sticta caulescens</i>	60	206,9 ± 3,3 ab	30,57 ± 0,99 ab	41,26 ± 1,33 ab	107,07 ± 4,33 a	28,03 ± 0,68 ab
araucaria	<i>Pseudocyphellaria flavicans</i>	60	423,6 ± 11,1 e	46,23 ± 1,29 bc	50,43 ± 1,30 bc	292,52 ± 10,06 d	37,15 ± 1,78 bcd
	<i>Nephroma antarcticum</i>	60	342,0 ± 13,6 cd	43,90 ± 1,71 bc	56,51 ± 1,79 cd	207,90 ± 9,68 cd	33,66 ± 1,20 abc
	<i>Pseudocyphellaria granulata</i>	60	400,2 ± 19,3 de	50,48 ± 0,97 c	67,67 ± 1,11 d	245,43 ± 9,72 d	36,65 ± 1,78 bcd

Tabla 3. Estimación de la relación entre la capacidad de retención de agua (WHC, mg H₂O x cm⁻²) con las variables independientes grosor córtex superior, capa algal y médula. El conjunto de datos incluyó a las especies del bosque mixto (*Sticta caulescens*, *Sticta ainoae*, *Pseudocyphellaria divulsa*, *Pseudocyphellaria berberina*, *Pseudocyphellaria nitida* y *Pseudocyphellaria coerulescens*) y las especies del bosque de araucaria (*Pseudocyphellaria flavicans*, *Pseudocyphellaria granulata* y *Nephroma antracticum*). (n=5).

Variable dependiente	Variable independiente	gl	R ²	F	p	t
WHC	Córtex superior	1	21,4	10,366	0,003	3,22
	Capa algal	1	67,7	79,529	<0,001	8,918
	Médula	1	23,7	11,795	0,001	3,434

Discusión

Se registró información anatómica y de las relaciones hídricas en ocho especies de líquenes provenientes de dos áreas regionalmente diferentes, que nos ayudan a explicar tendencias de adaptación local frente a la disponibilidad de agua en bosques templados del sur de Chile. Desde el punto de vista morfológico, todas las especies pertenecen al biotipo folioso, sin embargo, los talos de las especies del bosque de araucaria tiene un aspecto de cojinetes muy compactos adheridos íntimamente con la corteza de los árboles, resultando casi imposible retirar los ejemplares sin destruir parte de talo. Además estas especies aprovechan las marcadas fisuras entre las placas de araucaria para una mayor colocación y retención de agua. Diferente situación encontramos en los talos de las especies del bosque mixto las cuales presentan un aspecto mucho más laxo de adhesión al sustrato y no se registra una aglomeración compacta entre las especies. Larson & Kershaw (1976), estudiaron este efecto en *Alectoria ochroleuca* y *Cetraria nivalis* observando que cuando se desarrollan agrupados se produce un importante incremento de la resistencia evaporativa, y por tanto una reducción en las pérdidas de la misma. Este tipo de crecimiento también se ha observado en *Pycnothelia papillaria* (Jahns, 1987), al parecer reduce la exposición tanto al viento como al sol con el fin de retener el agua por más tiempo.

Se ha indicado en distintas ocasiones que los líquenes asociados a hábitat más secos tienen mayor capacidad de retención de agua (WHC) que las especies de hábitat más húmedos, a través de una mayor inversión en masa seca (DM) (Gauslaa & Coxon, 2011). Nuestros resultados tanto de biomasa como los de relaciones hídricas apoyan esta hipótesis, junto con las diferencias climáticas referidas en materiales y métodos entre las diferentes regiones tratadas y las diferencias estructurales de ambos tipos de bosques. Los valores más altos de STM y WHC fueron registrados

en las especies del bosque de araucaria, destacando considerablemente *Pseudocyphellaria granulata* en ambos grupos de líquenes (33,9 mg DM cm⁻²; 69,5 mg H₂O cm⁻², respectivamente; Tabla 1). De forma contraria, las especies del bosque mixto presentan menor valor de STM y WHC, en consecuencia una mayor relación área/peso. Se ha descrito que esta adaptación, es decir una mayor proporción área/peso facilitaría la captación de agua, luz y nutrientes (Larson *et al.*, 2012), sin embargo, tiene como consecuencia que las especies del bosque mixto (menos gruesas; Tabla 2), se deshidraten en un tiempo más breve que las especies del bosque de araucaria (más gruesas) (Gauslaa & Solhaug, 1998). Cabe destacar que los parámetros WHC y STM reúnen a las especies del bosque mixto de forma compacta, sin diferencias significativas entre ellas como se registra en la Tabla 1 y Figura 5. Mientras que STM y WHC en las especies del bosque de araucaria fueron mayores, sugiriendo mecanismos de adaptación a condiciones más secas. Destaca en el bosque mixto *Sticta caulescens* (cianolíquen) especie que presentó el valor más alto de STM y WHC (30,6 mg H₂O cm⁻²) (Tabla 1). Esta observación coincide con los resultados de Mackenzie & Cambell (2001), Gauslaa & Coxon (2011) y Merinero *et al.*, (2015), quienes registraron mayores niveles de acumulación de agua en cianolíquenes. Probablemente estas características le permiten hacer frente a las condiciones de sequía estival de la zona y compensar su incapacidad para ser activo por aire húmedo a diferencia de los clorolíquenes. Sin embargo, son necesarios mayores estudios que sostengan esta información. Altos valores de WHC y el porcentaje de saturación de agua también fueron registrados en *Sticta ainoae* y *Pseudocyphellaria divulsa*, estas tres especies coinciden en que fueron colectadas exclusivamente en la base de *Nothofagus nitida*, donde las características propias de esta especie arbórea crean condiciones de alta humedad y en algunas ocasiones pequeños encharcamientos producto de la escorrentía que favorecen la colonización de especies más higrofilas (Capítulo 1), especialmente en la base de esta especie arbórea. Cabe señalar que un exceso de agua líquida suele deprimir o incluso anular la fotosíntesis neta de los líquenes, fenómeno conocido como suprasaturación (Lange *et al.*, 1993a). En este sentido, la presencia de cifelas y pseudocifelas presentes en las especies de los géneros *Sticta* y *Pseudocyphellaria*, respectivamente permite el intercambio de CO₂ a través de la corteza inferior lo que les permite almacenar agua sin una severa o incluso ausente depresión por suprasaturación (Green *et al.*, 1981; Lange *et al.*, 2004). En el caso de *P. divulsa* y *S. caulescens* además hay que destacar que tiene una velocidad de desecación breve (respecto a las especies acompañantes) que posiblemente les permite hacer frente a estos eventuales encharcamiento.

En cuanto a las especies del bosque de araucaria, presentaron valores contrastantes respecto a las especies del bosque mixto en todos los parámetros evaluados (Tabla 1). El mayor valor de

STM y WHC en todas las especies es consistente con una mayor adaptación a demandas evaporativas (Gauslaa & Coxson 2011; Larsson *et al.*, 2012; Merinero *et al.*, 2014) más fuertes producto de un dosel abierto. Además, las condiciones climáticas en el bosque de araucaria son rigurosas con un clima frío por efecto de la altura y donde las precipitaciones con frecuencia son en forma de nieve. Sin embargo, el gran diámetro y estructura de la corteza de araucaria favorecería el gran desarrollo de estas epífitas foliosas en la cara sur de esta especie arbórea y en los primeros 1,8 metros del suelo (Villagra, 2006), poniendo de manifiesto la importancia de la diferenciación de los microhábitats. El tiempo de deshidratación también sugiere un contraste entre el periodo fisiológicamente activo entre especies de ambos bosques. Estos resultados coinciden con los aportados por Lange *et al.*, (1993b) sobre el almacenamiento de agua en líquenes de ambientes secos, las especies almacenan mayor cantidad de agua con el fin de mantener la fotosíntesis durante un periodo de tiempo más prolongado (Tabla 2). Esto también está de acuerdo con Pintado *et al.*, (2005) quienes estudiaron la actividad fotosintética en dos poblaciones de *Diploschistes diacapsis* concluyendo que los talos de sombra (norte) almacenan más agua por unidad de superficie ya que deben garantizar periodos más activos que los talos expuestos al sol. Estos resultados apoyan la estrategia de una alta fotosíntesis neta frente a un periodo de actividad más corto (sur) y por otro lado, talos expuestos al norte, una fotosíntesis neta inferior frente a un periodo de actividad más alto.

Es importante destacar que los valores de WHC en las especies de ambos bosques, están por encima del rango obtenido en diferentes especies de la familia Lobariaceae tratadas por Green *et al.*, 1985; Gauslaa & Coxson 2011; Gauslaa & Goward, 2012. Incluso las especies del bosque de araucaria presentaron valores sobre el rango de especies fruticulosas tratadas por Essen *et al.*, (2015). El único rango de WHC cercano a los líquenes del bosque mixto fue encontrado en *Lobaria scrobiculata* (cianolíquen, $29,13 \pm 0,39 \text{ mg H}_2\text{O cm}^{-2}$) presente en bosques de *Quercus pyrenaica* ubicados en el centro de España (Merinero *et al.*, 2015).

Relaciones hídricas y la anatomía del talo

La capacidad de acumulación de agua aumentó con el grosor total en todas las especies tratadas en este estudio. Sin embargo, el porcentaje del contenido hídrico a saturación es menor en las especies del bosque de araucaria (% sat; Tabla 1). Se registró que la capacidad de acumulación de agua presentó correlaciones significativas con tres capas anatómicas (córtex superior, capa algal, y la médula; Tabla 3). Sin embargo, los resultados indican que el grosor de la capa algal representa mejor la capacidad de retención hídrica. Gauslaa & Coxson (2011) encontraron que la médula no es el principal tejido o capa de reservorio de agua en especies foliosas. Ellos encontraron que la capa

algal era el principal centro de almacenamiento de agua tanto en ciano como en clorolíquenes. Honegger (2008) explica esto ya que las hifas hidrofílicas de la médula están cubierta de hifas hidrofóbicas, sumado a que una médula con muchos espacios aéreos no da lugar a un alto almacenamiento de agua. Por otro lado, Valladares *et al.*, (1998) demostraron que muchos espacios intracelulares en la parte superior de la capa algal puede contener agua líquida.

El WHC también se correlacionó con el córtex superior pero menos que el grosor de la capa algal. Esta es una capa higrófila que resulto menos gruesa en las especies del bosque mixto que las especies del bosque de araucaria (a excepción de *Pseudocyphellaria nitida*). Tretiach & Brown (1995), mostraron que los talos epilíticos de *Parmelia pastillifera* tenían un córtex superior más grueso que la de los talos epífitos (sometidos a menor PPFD que los epilíticos), concluyendo que este incremento en el grosor es una modificación enfocada a incrementar la fotoprotección del fotobionte. Esto podría estar relacionado con que esta capa podría reflejar y absorber parte de la radiación incidente, sin llegar a la capa algal lo que proporcionaría una mayor protección frente a la luz, calor y fotoinhibición (Beckett *et al.*, 2008).

Otras estrategias para hacer frente a la alta intensidad de luz también se ha discutido en otros grupos de líquenes. Desde nuestro estudio, en *Pseudocyphellaria granulata* (especie del bosque de araucaria) se registró pruina de forma parcial o completa sobre el talo (depósitos de oxalato de calcio principalmente), dando un aspecto blanquecino a primera vista. La función de estos depósitos de pruina han sido explicados como protector ya que reduciría los niveles de radiación que llegan al fotobionte (Büdel & Scheidegger, 2008). Así también hemos detectado que, a excepción de las especies *P. divulsa* y *P. nitida*, todas las especies presentan pigmentación marrón rojiza en la mayoría de los talos en el córtex superior. En el caso de los líquenes con cianobacterias esta pigmentación se expande por toda esta capa. En tanto, en las especies con fotobionte verde, cuando la presentan solo está en la zona superior de esta. Esta pigmentación presenta mayor intensidad en los líquenes del bosque de araucaria por lo que sugerimos y coincidimos con Martínez (1999) que esta pueda tener función fotoprotectora, sin embargo, son necesarios estudios concretos en las distintas especies evaluadas.

Este estudio contribuye a la comprensión de las adaptaciones hídricas y anatómicas relacionadas con la distribución de líquenes epífitos en ambientes aún bastante inexplorados en Chile. Los parámetros evaluados nos sugieren adaptaciones que separan las especies del grupo del bosque mixto frente a las especies del bosque de araucaria, sugiriendo que las condiciones de los bosques de araucaria favorecen la inversión de masa seca (DM) del talo con el fin de aumentar su capacidad de retención de agua (WHC) respecto a las especies del bosque mixto. Respecto a las

relaciones hídricas frente a la anatomía de las especies, solo se establecieron relaciones entre las especies al analizarlas en conjunto, por lo que un estudio más profundo y con un número mayor de réplicas es esencial para establecer relaciones específicas entre estos parámetros y las especies. Sin embargo, la distribución de las especies parece estar relacionadas con adaptaciones anatómicas que influyen en la capacidad de almacenamiento de agua y también morfológicas como por ejemplo, la presencia de pruina en *Pseudocyphellaria granulata*.

COMPARACIÓN ECOFISIOLÓGICA DE MACROLÍQUENES ADAPTADOS A DIFERENTES AMBIENTES FORESTALES EN CHILE



INTRODUCCIÓN

Los epífitos, entre ellos los líquenes, son organismos que crecen sobre otras plantas y se especializan para vivir de forma no parasitaria sobre el sustrato proporcionado por estas (Barkman, 1958). En el bosque los hospederos pueden ser árboles, arbustos y enredaderas leñosas, las que otorgan soporte mecánico sin sufrir daño ya que a diferencia de los parásitos, las epífitas son totalmente autótrofas (Benzing, 1998). La condición de poiquilohidria implica que los líquenes epífitos carezcan de un mecanismo para regular el contenido hídrico (cutículas o capas protectoras). De esta forma, dependen directamente del medio que los rodea en los procesos de captación y pérdida de agua (Green *et al.*, 2011). En consecuencia, están adaptados tanto desde el punto de vista morfológico-anatómico (Sancho & Kappen, 1989; Lakatos *et al.*, 2006) como fisiológicamente (Lange *et al.*, 1995) a cambios en su contenido hídrico. Esta especialización les permite funcionar óptimamente bajo regímenes específicos de hidratación y mantener un balance positivo de carbono en una amplia variedad de condiciones ambientales (Lakatos *et al.*, 2006; Gauslaa & Coxson, 2011; Larsson *et al.*, 2012). Además, en un medio forestal dependen de los árboles y su interacción rápida con el entorno abiótico resultando particularmente sensibles a los cambios ocasionados por perturbaciones antrópicas y la deforestación (Kivistö & Kuusinen, 2000; Lakatos *et al.*, 2006; Essen, 2006). Por lo que estudiar las adaptaciones a la disponibilidad hídrica y la respuesta fotosintética frente a distintos niveles de luz, junto con su distribución dentro del medio forestal es necesario para conocer su amplitud ecológica reflejada en la preferencia de hábitat que ocupan las diferentes especies.

El hospedero otorga condiciones microclimáticas que influyen sobre la composición y abundancia de las epífitas en el bosque como por ejemplo, el gradiente vertical (Cornelissen & Steege, 1989; Ellis & Coppins, 2006; Parra *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2015), el cual proporciona al epífito diferentes microhábitats con un patrón vertical en el que factores como la humedad y los nutrientes disminuyen con la altura, mientras que la disponibilidad de luz, temperatura y velocidad del viento aumentan simultáneamente (Meinzer & Goldstein, 1996; Sillett & Rambo, 2000). Junto con ello, la composición de especies varía dependiendo del forófito y está altamente relacionada con las propiedades químicas y físicas de la corteza (Barkmann 1958, Larsen *et al.*, 2006; Jüriado *et al.*, 2009, Pereira *et al.*, 2014), así como también con la edad del forófito y la textura y profundidad de las grietas y fisuras corticales (Snäll *et al.*, 2004; Gustafsson & Eriksson, 1995). La arquitectura del follaje o la condición de perenne o caducifolio también afectaran a la abundancia y diversidad de epífitos a través de factores como la captación de neblina, condiciones de luz, retención de más o menos humedad relativa del aire y aprovechamiento de precipitaciones (Sillett & Antoine, 2004;

Woda *et al.*, 2006). Todo lo mencionado pone de manifiesto que las diferencias en la composición de especies y su rendimiento pueden explicarse en parte por sus requerimientos fisiológicos (Green *et al.*, 1997; Rambo, 2000). En este sentido, Woda *et al.*, (2006) determinaron que helechos epífitos y líquenes foliosos se ubican preferentemente en áreas umbrófilas del bosque primario siempreverde perteneciente al tipo forestal *Laurelio-Weinmannietum* (Oberdorfer, 1960), respondiendo probablemente a la mayor humedad relativa del aire en estos sitios. Al contrario, encontraron que líquenes fruticulosos se encuentran con mayor frecuencia en un rodal joven de un bosque secundario del tipo forestal *Fitzroyetum* (dominados por *Drimys winteri* y *Fitzroya cupressoides*), donde existen áreas más soleadas y en consecuencia helechos epífitos y líquenes foliosos están ausentes.

Estas diferencias ecológicas en la distribución de las especies pueden ser respaldadas por Green *et al.*, (1997), quienes midieron la respuesta fotosintética frente a la luz en nueve especies estudiadas de macrolíquenes del bosque templado lluvioso en Nueva Zelanda. Con el cual los bosques templados de Chile presentan fuertes afinidades florísticas, particularmente aparentes en la flora de líquenes epífitos foliosos de los géneros *Sticta* y *Pseudocyphellaria* (Green & Lange, 1991). Las nueve especies tratadas por Green *et al.*, (1997) se distribuían desde la sombra profunda hasta el ambiente externo al bosque, respondiendo acorde con sus adaptaciones como por ejemplo, puntos de saturación y compensación de luz más bajos en las especies de sombra profunda y contrariamente valores superiores en las especies que se encontraban fuera del bosque. Además, Green *et al.*, (1991) han abordado varios aspectos de las relaciones hídricas en diferentes especies de bosque templados de Nueva Zelanda que dan soporte en cuanto a la amplitud ecológica de las especies con diferentes requerimientos hídricos. Así por ejemplo, algunos líquenes encontraron una fuerte depresión en la fotosíntesis neta cuando estaban saturados con agua (Green & Snelgar, 1981a, b; Green *et al.*, 1985). La suprasaturación con agua es un fenómeno que limita la fotosíntesis y conlleva a un aumento de las resistencias a la difusión de CO₂ dentro del talo (Cowan *et al.*, 1992). Es específico de cada especie (Lange *et al.*, 1993a) y puede variar incluso en especies con diferente procedencia (Lange *et al.*, 2006). Este tipo de trabajos nos permiten obtener tendencias adaptativas a partir de patrones contrastantes de estos epífitos y conocer la importancia de diferentes parámetros ambientales para la producción primaria en especies de líquenes conspicuas de bosques templados.

Los principales estudios en los bosques templados de Sudamérica respecto a la respuesta ecofisiológica de epífitas están restringidos a epífitos vasculares y recientemente a musgos y helechos (Parra *et al.*, 2009; Atala *et al.*, 2014; Saldaña *et al.*, 2014; Parra *et al.*, 2015; Flores-Bavestrello

et al., 2016). En líquenes escasas aproximaciones se han realizado hasta la fecha, aun cuando se ha identificado que la biodiversidad de líquenes epífitos de estos bosques se encuentra entre las más altas del mundo (Galloway, 1997). Además, diversas investigaciones han comprobado el papel de los líquenes en las comunidades terrestres y ecosistemas (Asplund & Wardle, 2016), demostrando que estos son un grupo biológico importante de los ecosistemas forestales ya que contribuyen a la diversidad biológica forestal y a la conservación de esta (Kuusinen & Siitonen 1998; Pharo *et al.*, 1999; Pereira, 2007; Gunnarsson *et al.*, 2004; Root *et al.*, 2007; Quilhot *et al.*, 2010; Rubio *et al.*, 2013). También se ha demostrado que desempeñan un papel importante en el ciclo hidrológico del bosque ya que aumentan la intercepción de precipitaciones en el dosel, por tanto contribuyen a la humedad del interior del bosque (Oyarzun *et al.*, 2011; Stanton *et al.*, 2014; Van Stan & Pypker, 2015). Por otra parte, aproximadamente el 10% de los líquenes fijan el N₂ atmosférico a través de su asociación con cianobacterias, proporcionando una entrada neta de nitrógeno al ecosistema forestal durante su descomposición (Green *et al.*, 1980; Antoine, 2004). Cabe destacar que cumplen un importante rol en el monitoreo ambiental debido a que son especialmente sensibles a una amplia gama de factores ambientales como cambio climático, contaminación del aire y perturbación ambiental reflejados en los cambios en el uso del suelo y silvicultura (Saunders *et al.*, 1991; Soechting, 1995; McCune, 2000; Hedenäs & Ericson, 2000; Nash, 2008).

Estudios funcionales que evalúen adaptaciones hídricas y que documenten la actividad de la fotosíntesis de los líquenes en Chile aún son escasos. Existe, por tanto, una falta de investigación sobre los rasgos ecofisiológicos en relación al rendimiento fotosintético que potencialmente determinan la preferencia de hábitat de las especies de líquenes (Redon & Lange, 1983; Atala *et al.*, 2015). El único trabajo en este grupo de organismos en bosques templados de Chile se restringe al de Atala *et al.*, (2015), quienes evaluaron ciertos rasgos funcionales, como el grosor de las distintas capas del talo, estado de los fotosistemas, y presencia de compuestos fotoprotectores y antioxidantes en diferentes poblaciones de *Pseudocyphellaria flavicans*. Los ejemplares provenían de dos poblaciones de la Cordillera de la Costa (Nahuelbuta y Contulmo, Región de la Araucanía) y una de la Cordillera de los Andes (Ralco, Región del Bío-Bío). Donde los ejemplares de Ralco se desarrollaban en un bosque más cerrado y con periodos más secos, comparado con Nahuelbuta y Contulmo. Estos autores encontraron diferencias significativas en la anatomía del talo entre poblaciones, al igual que en las curvas de respuesta de la eficiencia máxima del PSII (F_v/F_m) a la desecación y los valores medidos *in situ*. Estas diferencias entre poblaciones fueron atribuidas a diferencias en las condiciones ambientales locales, principalmente humedad y luminosidad. Este estudio demuestra de manera eficiente que estas investigaciones tienen un potencial considerable para explicar patrones de vegetación y de diversidad de líquenes epífitos. En tanto, Redon & Lange

(1983) describieron las condiciones del hábitat y los patrones de distribución de los líquenes epífitos en un oasis de neblina en la cordillera de la costa en el Parque Nacional Fray Jorge (IV Región de Coquimbo) y el intercambio de CO₂ y las relaciones hídricas de líquenes típicos en esta área (*Everniopsis trulla*, *Usnea lacerata*, *Heterodermia spinulosa* y *Ramalina cactacearum*). En un transecto con y sin influencia de la niebla caracterizaron los cambios en la vegetación de los líquenes y la sucesión de especies. Estos autores determinaron que el éxito adaptativo de las especies en esta área surge de la utilización de niebla y vapor de agua como recurso hídrico para la asimilación fotosintética.

La cordillera de la costa de la región valdiviana es parte de las 25 ecoregiones más amenazadas del mundo (WWF, 2002). Destacan los bosques templados con dosel siempreverde, los cuales tienen bajos niveles de luz cerca del suelo del bosque lo que proporciona una luz incidente baja durante todo el año (Woda *et al.*, 2006). El régimen pluviométrico de la región y el gran aporte de interceptación de niebla que presentan estos bosques les permite albergar una densa vegetación de epífitas no vasculares (Woda *et al.*, 2006), por lo que resulta ideal para el desarrollo de un estudio ecofisiológico patrón sobre adaptaciones de macrolíquenes que crecen en una zona protegida y con mínima intervención humana.

Como punto de contraste al bosque valdiviano, y con la finalidad de contextualizar mejor los patrones adaptativos analizados, se han medido las mismas respuestas ecofisiológicas en tres especies de macrolíquenes representativos de un bosque de *Araucaria auracana*. Este bosque presenta características diferenciadas respecto al bosque objeto de estudio, ya que se desarrolla en clima templado-cálido con temperaturas medias de 15,1 °C en verano y 6,0 °C en invierno. Presenta marcados contrastes entre inviernos prolongados y de bajas temperaturas con veranos secos y de altas temperaturas. La precipitación media anual se sitúa entre los 2.500 a 3.000 mm (Pollmann, 2003), siendo una parte de la precipitación nival (desde mayo a septiembre). Los ejemplares adultos de *A. araucana* tienen una copa reducida con ramas insertas en verticilos regulares que les da un aspecto de paraguas de base circular. Su fuste está protegido por una corteza gruesa y de gran dureza. Exteriormente está agrietada formando placas poligonales rugosas (Donoso, 2006).

El conocimiento de las adaptaciones fisiológicas al hábitat respecto al uso que estos organismos hacen del agua y la luz, permitirá entender patrones de respuesta ante las amenazas más relevantes de modificación ambiental para este ecosistema. Los datos obtenidos pretenden aportar luz sobre el desarrollo de estrategias de conservación (conjuntas o específicas) para las cubiertas de líquenes epífitos en el hábitat estudiado.

Objetivos

- I. Evaluar el comportamiento fisiológico y las estrategias adaptativas a través del estudio de la respuesta del intercambio gaseoso (bajo diferentes condiciones de agua y luz) en condiciones de laboratorio de siete especies de macrolíquenes representativas del bosque siempreverde lluvioso.
- II. Comparar las estrategias adaptativas anteriores con el comportamiento fisiológico de tres macrolíquenes de un bosque de *Araucaria araucana*.
- III. Evaluar si el contenido de pigmentos fotosintéticos es consistente con la distribución de las diferentes especies.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y selección de especies

Se seleccionó un bosque siempreverde, ubicado en el Parque Nacional Alerce Costero (40° 00' S/73° 25'O, 600 m de altitud), Región de los Ríos, Chile (Descrito en el capítulo I y desde aquí en adelante llamado bosque mixto). Teniendo en cuenta la representatividad en cuanto a la cobertura registrada, se seleccionaron dos especies de macrolíquenes fruticulosos de la familia Sphaerophoraceae (*Bunodophon australe* y *Leifidium tenerum*) y cinco especies de macrolíquenes foliosos pertenecientes a la familia Lobariaceae (*Sticta caulescens*, *Sticta ainoae*, *Pseudocyphellaria divulsa*, *Pseudocyphellaria berberina* y *Pseudocyphellaria nitida*). Por otra parte, se seleccionó un bosque de *Araucaria araucana* (Mol.) K. Koch. (Descrito en el capítulo II y desde aquí en adelante llamado bosque de araucaria) dentro del Parque Nacional Conguillío, ubicado en la precordillera de Los Andes en la provincia de Cautín (38° 30'S y 71° 30'O; 1215 m de altitud), Región de la Araucanía, Chile.

Las especies se han dividido en seis grupos funcionales de acuerdo con McCune (1993) y Li *et al.*, (2015). FRT: líquenes fruticulosos; FPA: líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados (V corresponde a las especies del bosque mixto y C corresponde a las especies del bosque de araucaria), FPE: líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados, FOC: líquenes foliosos con cifela, CIL: cianolíquenes y FOL: líquenes foliosos sin cifelas ni pseudocifelas (Tabla1).

Medidas de intercambio gaseoso

Las medidas de intercambio gaseoso en el laboratorio se realizaron con un sistema de minicubeta CMS400 (Walz, Alemania), que está formado por un analizador de gases por infrarrojos y una

cubeta de plexiglás, transparente a la luz y de aproximadamente 250 cm³. Se utilizó una fuente de luz unida a una fibra óptica (KL2500LCD, Schott, Alemania) que nos permitió exponer las muestras a distintas radiaciones lumínicas. Dentro de la cubeta se encuentran unos sensores de humedad, de luz, temperatura del aire, temperatura de la muestra y un pequeño ventilador que homogeneiza el aire circulante. Así, este equipo nos permite trabajar en condiciones controladas de radiación, humedad y temperatura. El sistema, descrito por Kappen (1983), funciona a través de un flujo abierto comparando las concentraciones de CO₂ y H₂O de una corriente de aire que atraviesa la cubeta (con la muestra en el interior) y otra corriente que proviene de un recipiente vacío del mismo volumen que la cubeta (midiéndose así las diferencias en los flujos entre ambas corrientes). Antes de entrar en el sistema, el aire pasa por un filtro de partículas y se mezcla en un bidón de 300 litros de volumen para evitar posibles picos de CO₂. El aire que llega al detector de infrarrojos es controlado mediante rotámetros que mantienen el flujo constante de 0,6 l/minuto. En primer lugar se mide la concentración de agua que posteriormente se elimina mediante un condensador (MGK1, Walz, Alemania) y a continuación se mide el CO₂ en una corriente de aire seco. El rango de medida del analizador de CO₂ es de ± 50 ppm y su sensibilidad de $\pm 0,1$ ppm.

Procedimiento de laboratorio

Teniendo en cuenta el la sensibilidad a la desecación que mostraron las especies del bosque mixto en el capítulo II, las medidas de intercambio gaseoso se realizaron dentro de la primera semana después de recogida las muestras de campo. Se realizaron medidas de Fv/Fm para evaluar el estado fisiológico de los fotosistemas de los ejemplares *in situ*. (Figura 3). Una vez en el laboratorio, realizamos otra medida *ex situ* de este parámetro con el fin de evaluar el impacto del traslado desde su hábitat al laboratorio (Figura 3).

Los talos se revitalizaron durante tres días en una cámara climática (Fitotron® SGC 120) con un fotoperíodo de 12h oscuridad/12h a 100 mol⁻²s⁻¹ de luz fotosintéticamente activa (PPFD) y pulverizándolos con agua mineral una vez al día. Posteriormente se realizaron dos protocolos experimentales distintos:

- 1) Curvas de deshidratación: tienen como objetivos estudiar la evolución de la fotosíntesis neta frente al contenido hídrico y nos permite conocer el óptimo contenido hídrico de cada ejemplar a una temperatura concreta.
- 2) Curvas de luz: tiene como objetivos estudiar la evolución de la respuesta fotosintética frente a distintos niveles de luz y nos permite conocer el máximo valor de asimilación fotosintética y el punto de compensación.

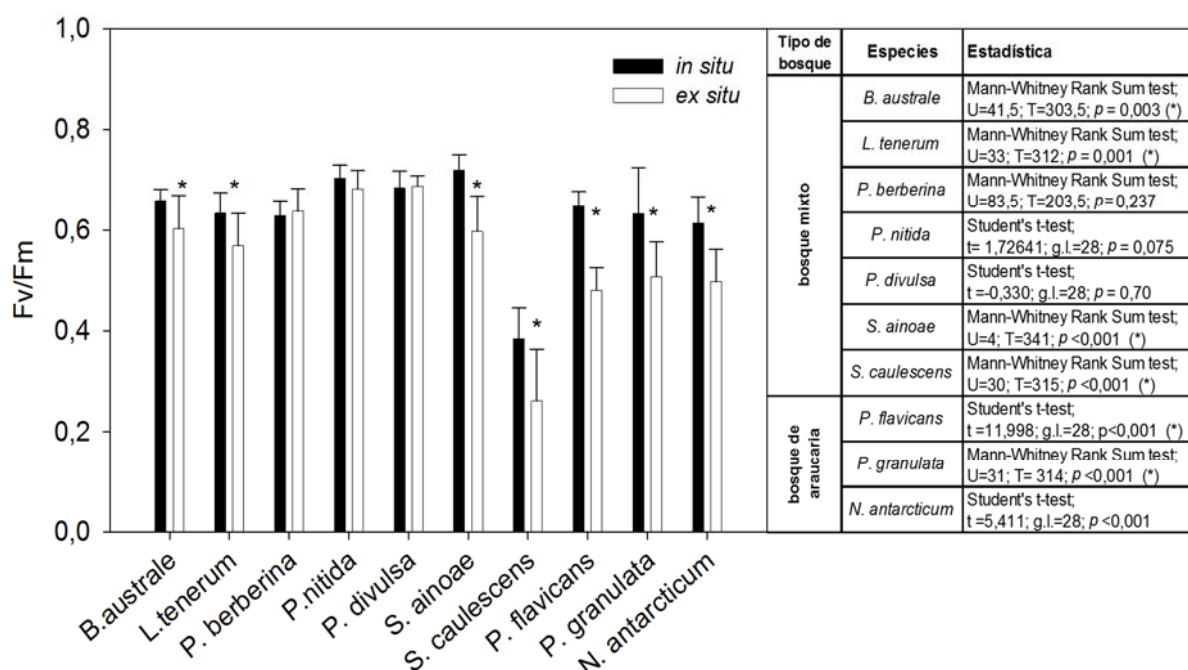


Figura 3. Resumen de la eficacia fotosintética máxima (F_v/F_m) de 10 especies de macrolíquenes medidos in situ y ex situ. Asteriscos (*) indican diferencias significativas entre las medidas. Media \pm ES (n=4) en *B. australe*, *P. berberina*, *P. nitida*, *P. divulsa*, *P. flavicans* y *N. antarcticum*. Media \pm ES (n=5) en *L. tenerum*, *S. ainoae*, *S. caulescens* y *P. granulata*.

Antes de iniciar estas medidas las muestras fueron hidratadas a saturación durante 20 minutos, retirando el exceso de agua superficial adherida antes de comenzar las medidas de intercambio gaseoso. El número de réplicas utilizado en ambos procedimientos fluctuaron entre 4 y 5 (detalles en Tabla 1).

Curvas de deshidratación

Las muestras hidratadas a saturación con agua mineral, se sacudieron para eliminar el agua superficial e inmediatamente se pesaron en una balanza de precisión (Sartorius, Alemania, 10 mg-220 g) y luego se introdujeron a la cubeta a una radiación moderada constante de $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (ya que consideramos que en condiciones naturales no sería saturante para los fotosistemas) 15°C de temperatura, 90% de humedad relativa y $0,6 \text{ l min}^{-1}$ de flujo del aire. Cada ejemplar se pesó cada 20 minutos hasta alcanzar los óptimos hídricos y fueron retirados 20 minutos después del inicio de la disminución de la señal fotosintética. El contenido hídrico de los talos (WC, en % del peso seco)

fue calculado a partir del peso seco (peso obtenido en estufa a 100 °C durante 24 horas), según la siguiente fórmula: $WC = [(WW-DM)/DM] \times 100$.

Curvas de luz

Como protocolo de trabajo estas curvas se realizaron 24 horas después de las curvas de deshidratación. Las muestras se vuelven a hidratar a saturación pulverizándolas con agua mineral y retirado el exceso de agua cuidadosamente con un papel absorbente. Antes y después de cada medida, los ejemplares fueron pesados para determinar el contenido de agua de cada muestra en función del peso seco. Primero se midió a $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ para llegar al óptimo de hidratación de cada muestra. Una vez alcanzado se realizó la curva de luz usando un gradiente de radiación de 0, 25, 50, 100, 200, 400, 800, 1200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y a 15°C de temperatura. A 0 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ se midió la respiración en oscuridad en máximo contenido hídrico. Con el fin de asegurar que las muestras se encontraban en el óptimo fotosintético al término de la curva de luz estas eran pesadas antes y después de cada medida..

Las curvas de respuesta a la luz fueron ajustas a la función de Smith (Green *et al.*, 1997) con el cual obtenemos:

- a.- Punto de compensación de luz (PC). Se refiere a la radiación en que la FN es cero ya que la fotosíntesis bruta compensa a la respiración en oscuridad.
- b.- Punto de saturación de luz (PS). Lo obtenemos calculando la PPFD a la que se alcanza el 90% de la máxima fotosíntesis neta medida.
- c.- FN máx, corresponde a máxima tasa fotosintética neta

Concentración de pigmentos

La concentración de clorofila total (Chl *a* y Chl *b*) y carotenos totales (Car) fueron calculadas siguiendo el método de Barnes *et al.*, (1992) y Wellburn (1994), respectivamente (tratamientos y cálculos detallados en capítulo II).

Análisis estadístico

Todos los datos fueron comprobados con la prueba de normalidad y de homogeneidad de Shapiro-Wilk y la prueba de homogeneidad Levene, respectivamente antes de seleccionar el tipo de análisis a realizar. Cuando los supuestos se cumplían realizamos un test ANOVA de una vía seguido del análisis *a posteriori* de Tukey. Cuando algunos de estos supuestos no se cumplían, aplicamos el test no paramétrico de Kruskal-Wallis seguido por el análisis *a posteriori* de Tukey. Para

comparar la eficacia fotosintética máxima (F_v/F_m) por especies entre las muestras *in situ* y *ex situ*, y la concentración entre clorofila y carotenos por especies se utilizaron Student's t-test, o el no-paramétrico correspondiente, Mann-Whitney Rank Sum test. El paquete estadístico utilizado en estos análisis fue el programa *Statsgraphic* versión 5.1. Para los análisis de regresión lineal, ajuste de curvas y nube de puntos se utilizó el programa *Sigmaplot* 11.0.

RESULTADOS

Contenido hídrico máximo y óptimo

La Tabla 1 resume los valores de contenido hídrico máximo (WCmax (%)) y el porcentaje de agua con que alcanzan el óptimo fotosintético (WCopt (%)) cada una de las especies estudiadas. WCmax difirió entre las especies analizadas (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H = 32,630$; $gl = 9$). Los valores más bajos de este parámetro los presentaron las especies del grupo fruticuloso (FRT), *Bunodophoron australe* ($122,37 \pm 13,15$ %) y *Leifidium tenerum* ($132,06 \pm 7,64$ %) del bosque mixto, junto con *N. antarcticum* ($185,78 \pm 10,75$ %) del bosque de araucaria. Los valores más altos fueron registrados en las especies del bosque mixto destacando principalmente *Pseudocyphellaria divulsa* y *Sticta ainoae* con $266,48 \pm 11,4$ % y $281,68 \pm 24,59$ %, respectivamente. WCopt difiere entre las especies analizadas (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p = 0,001$; $H = 31,15$; $gl = 9$). Los valores más bajos lo presentaron *B. australe* ($38,32 \pm 5,24$ %) *L. tenerum* ($53,78 \pm 8,14$ %) y *P. nitida* ($71,22 \pm 5,38$ %) del bosque mixto. Los valores más altos fueron registrados en *S. ainoae* con $170 \pm 14,36$ % y en *Sticta caulescense* $110,66 \pm 14,36$ %, ambas del bosque mixto. Cuando el análisis se realiza por tipo de bosque, las especies del bosque mixto se diferencian entre sí (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H = 23,39$; $gl = 6$). En tanto, en las especies del bosque de araucaria no se registraron diferencias entre las especies. ($p = 0,21$; *ANOVA*; $\alpha = 0,050$).

Tabla 1. Listado de especies de macrolíquenes ordenado por tipo de bosque (mixto y de araucarias) y grupo funcional. Donde, FRT= líquenes fruticulosos; FPA= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados (V corresponde a las especies del bosque mixto y C corresponde a las especies del bosque de araucaria), FPE= líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes estrechamente lobulados y FOC= líquenes foliosos con cifelas CIL corresponde a cianolíquenes y FOL: líquenes foliosos sin cifelas ni pseudocifelas. “WC max” corresponde a valores medios de máximo contenido hídrico, “WCopt (%)” corresponde al porcentaje de WC con que alcanzan el óptimo, t (min) FN Max. corresponde al tiempo en minutos en alcanzar el máximo de fotosíntesis neta (FN) y t (min) FN Opt. corresponde al tiempo en minutos en que se mantienen

en el óptimo fotosintético. \pm SE (error estándar). Letras distintas indican diferencias significativas entre especies $p < 0,05$ por Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks seguido del test post-hoc Tukey's HSD.

Tipo de bosque	Grupo funcional	Especies	número de replicas	WC max (%)	WC opt (%)	t (min) FN Max.	t (min) FN Opt.
bosque mixto	FRT	<i>Bunodophoron australe</i>	4	122,37 \pm 13,15 a	38,32 \pm 5,24 a	40 \pm 0 a	20 \pm 0 a
		<i>Leifidium tenerum</i>	5	132,06 \pm 7,64 ab	53,78 \pm 8,14 ab	64 \pm 5 ab	56 \pm 4 cd
	FPAV	<i>Pseudocyphellaria berberina</i>	4	216,57 \pm 6,23 cd	90,53 \pm 2,96 abc	97,5 \pm 1,44 bc	50 \pm 5,8 bc
		<i>Pseudocyphellaria nitida</i>	4	237,64 \pm 16,72 cd	71,22 \pm 5,38 abc	97 \pm 1,44 bc	65 \pm 5 cd
	FPE	<i>Pseudocyphellaria divulsa</i>	4	281,68 \pm 24,59 d	88,51 \pm 20,64 abc	75 \pm 2,04 ab	25 \pm 5 ab
	FOC	<i>Sticta ainoae</i>	5	266,48 \pm 11,4 d	170,62 \pm 14,36 d	60 \pm 8 ab	76 \pm 4 de
	CIL	<i>Sticta caulescens</i>	5	230,18 \pm 24,47 cd	110,66 \pm 14,36 c	36 \pm 7 a	20 \pm 0 a
bosque de araucaria	FPAC	<i>Pseudocyphellaria flavicans</i>	4	225,45 \pm 14,07 cd	97,14 \pm 11,04 bc	125 \pm 10 cd	90 \pm 5,8 ef
		<i>Pseudocyphellaria granulata</i>	5	197,53 \pm 10,99 bc	80,14 \pm 3,34 abc	148 \pm 14 d	100 \pm 8,9 f
	FOL	<i>Nephroma antarcticum</i>	4	185,78 \pm 10,75 abc	100,42 \pm 11,03 c	120 \pm 20 cd	165 \pm 5 g

Respuesta de la Fotosíntesis Neta (FN) frente al contenido hídrico del talo

La Figura 4 muestra la variación del porcentaje máximo de fotosíntesis neta (FN) en relación al contenido hídrico del talo respecto al peso seco (%p.s) en las especies del bosque mixto. Las gráficas han sido distribuidas según el grupo funcional, así las gráficas A y B pertenecen al grupo FRT (líquenes fruticulosos), C y D al grupo FPAV (líquenes foliosos con pseudocifelas y márgenes ampliamente lobulados). E y F al grupo funcional FOC (líquenes foliosos con cifela) y CIL (cianolíquenes), respectivamente. Las curvas representan solo una parte del período total de actividad ya que fueron evaluadas solo hasta alcanzar el tiempo y peso óptimo de FN. El tiempo en que las especies tardan en alcanzar el máximo de FN (Tabla1; t (min) FN Max.) difirió entre ellas (Tabla 1; *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H=41,117$; $gl=9$). El detalle de los tiempos se realiza en conjunto con la evolución de FN a altos contenidos hídrico. Sin embargo, es necesario mencionar que el análisis por tipo de bosque respecto al tiempo en que llegan al máximo (t (min) FN Max.) revela tres grupos de especies en el bosque mixto (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H=27,479$; $gl=6$). El análisis reúne a *S. caulescens* y *B. australe* con los valores más bajos, *P. divulsa* y *P. nitida* con los valores más altos y finalmente a *S. ainoae*, *L. tenerum* y *P. divulsa* con valores intermedios. Algunas especies presentan valores transitorios entre unos grupos y otros. El agrupamiento respecto a este parámetro no presentó ningún patrón claro respecto al grupo

funcional. En tanto, las especies del bosque de araucaria no presentaron diferencias de t (min) FN max. entre ellas ($p=0,50$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$).

El tiempo en que las especies mantienen en el óptimo de fotosíntesis ha sido definido entre el 75 y 100% de NP (Lange *et al.*, 1993). Sin embargo, debido a que las curvas en muchos casos fueron detenidas poco después de alcanzar el óptimo fotosintético, se ha acotado a una franja del 85% en todas las especies para poder comparar este parámetro entre especies. Así el tiempo en minutos en que las especies se mantienen en el óptimo fotosintético difirió entre ellas (t (min) FN Opt.) (Tabla 1; *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p<0,001$; $H=40,54$; $gl=9$). Al igual que t (min) FN Max. se detallarán en conjunto con la evolución de FN a altos contenidos hídrico. El análisis por tipo de bosque respecto t (min) FN Opt.) reveló tres grupos de especies en el 2bosque mixto (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p<0,001$; $H=27,008$; $gl=6$). Reuniendo a *B. australe*, *S. caulescens* y *P. divulsa* con los valores más bajos, *S. ainoae* con el valor más alto y finalmente a *P. berberina*, *L. tenerum* y *P. nitida*, con valores intermedios. En tanto, las especies del bosque de araucaria presentaron diferencias entre ellas, resultando la especie diferencial *N. antarcticum* (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p=0,007$; $H=8,42$; $gl=2$).

La mayoría de las especies presentan depresión de FN a altos contenidos hídricos en el bosque mixto. *S. caulescens* presentó máximas tasas de FN pocos minutos después de comenzar las medidas (Tabla 1, “ t (min) FN Max.”; *Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p<0,001$; $H=38,25$; $gl=9$). FNmax en *B. australe* (A) es alcanzado en 40 ± 0 minutos y *L. tenerum* (B) en 65 ± 5 minutos (Tabla 1), luego presentan un breve periodo de actividad descendiendo FN rápidamente por deshidratación (más evidente en *B. australe*). Para una FN óptima *B. australe* debe llegar al $38,32 \pm 5,24$ de su contenido hídrico. En *L. tenerum* (B) FN optima se obtuvo en torno al $53,78 \pm 8,14$ % de su contenido hídrico. En el grupo FPAV (Figura 4C y 4D), *P. berberina* FN óptimo se obtuvo al alcanzar el $90,53 \pm 2,96$ y en *P. nitida* $71,22 \pm 25,38$ %. El máximo valor de FN en *P. berberina* (Figura 4C) y *P. nitida* (Figura 4D) es alcanzado en $97,5\pm1,44$ minutos (Tabla 1, t (min) FN Max.).

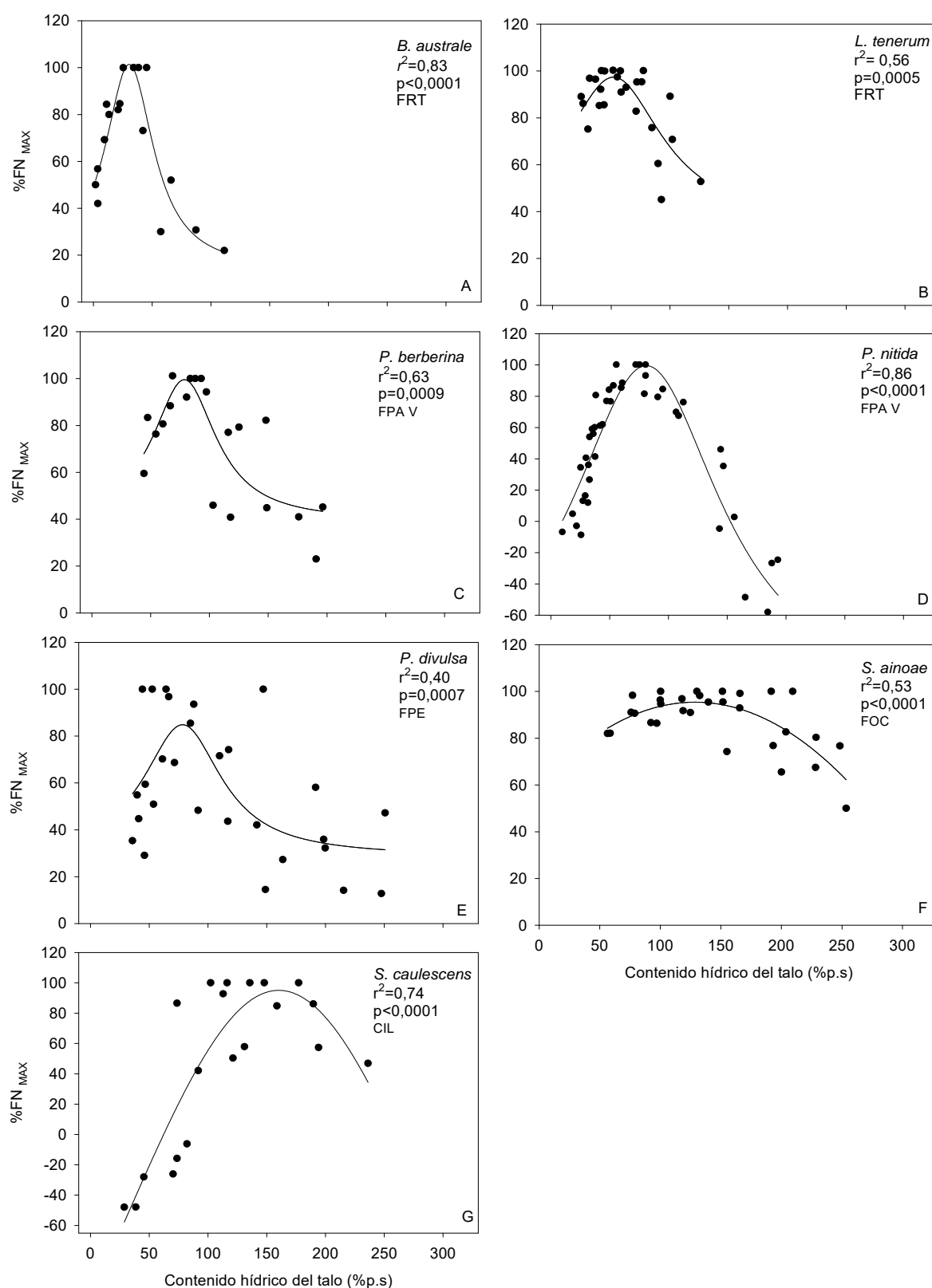


Figura 4. Porcentaje de Fotosíntesis Neta máxima (%FN) frente al contenido hídrico (%p.s) a 15 °C y 200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en líquenes del bosque mixto. La grafica representa $n=4$ en *B. australe* (A), *P. berberina* (C), *P. nitida* (D), *P. divulsa* (E) y *S. caulescens* (G) y $n=5$ en *L. tenerum* (B) y *S. ainoae* (F).

Como se muestra en la Figura 4D, *P. nitida* presentó depresión total de la fotosíntesis a altos contenidos hídricos. El grupo FPE (Figura 4E) representado por *P. divulsa* presentó FN óptima a $88, 51 \pm 20, 64\%$ de su contenido hídrico.

El máximo fotosintético es alcanzado a $75 \pm 2,04$ minutos, mientras que la ventana de actividad óptima alcanza 25 ± 5 minutos. En tanto, *S. ainoae* (grupo FOC, Figura 4F) presentó FN óptima a $170, 62 \pm 14,36 \%$ de su contenido hídrico. El máximo fotosintético es alcanzado a 60 ± 8 minutos y la ventana de actividad óptima alcanzó 76 ± 4 minutos, resultando la especie del bosque mixto con el periodo de actividad más prolongado (Tabla 2, t (min) FN Max.). Finalmente *S. caulescens* (CIL, Figura 4G) presentó FN óptima a $110,6 \pm 14, 36 \%$ de su contenido hídrico. El máximo fotosintético es alcanzado tan solo en 36 ± 7 (minutos) el que se mantiene en una breve ventana de actividad de 20 ± 0 minutos, resultando la especie más sensible a la deshidratación.

La Figura 5 muestra la variación del porcentaje máximo de fotosíntesis neta (%FN) en relación al contenido hídrico de talo (%p.s) de las especies del bosque de araucaria. Las especies del grupo FPAC presentaron depresión de la fotosíntesis neta a altos contenidos hídricos. Sin embargo, ambos grupos presentan diferencias interesantes respecto a la evolución de la curva. En primer lugar, se requiere más tiempo (Tabla 1) para lograr el máximo de FN en FPAC, donde por ejemplo *Pseudocyphellaria granulata* tardó 148 ± 14 minutos en alcanzarlo seguido de *Pseudocyphellaria flavicans* (125 ± 10 minutos) y *N. antarcticum* (120 ± 20 minutos). A pesar de estas marcadas tendencias, las diferencias con de las dos *Pseudocyphellaria* del bosque mixto no fueron significativas. En segundo lugar, presentan una ventana de actividad óptima más amplia que la mayoría de especies del bosque mixto. Manteniendo el óptimo fotosintético durante $90 \pm 5,8$ minutos en *P. flavicans*, $100 \pm 8,9$ minutos en *P. granulata* y 165 ± 5 minutos en *N. antarcticum*.

Finalmente, ambas especies del grupo FPAC presentan WCopt. similares al grupo FPAV. *P. flavicans* y *P. granulata* presentaron FN óptima a $97,14 \pm 11,04\%$ y $80,14 \pm 3,34\%$. En tanto *N. antarcticum* (grupo FOL, Figura 5C) presenta FN óptima a $100,42 \pm 11,03\%$ de su contenido hídrico.

Respuesta de la Fotosíntesis Neta (FN) frente a la luz

Las curvas de respiración en oscuridad (RO) y fotosíntesis neta (FN) frente a la luz incidente (PPFD) se resumen en la Figura 6 para las especies del bosque mixto y en la Figura 7 para las especies de bosque de araucaria. La respuesta de FN frente a la luz se obtuvo a óptimo contenido hídrico y 15°C . RO se midió a máximo contenido hídrico. Todas las especies muestran una típica curva de saturación, comenzando con la respiración en oscuridad. Luego se observa una curva con

forma creciente al comienzo casi lineal, pasando por un nivel de compensación de luz y luego aumentando de forma progresiva hasta alcanzar un valor de saturación de luz.

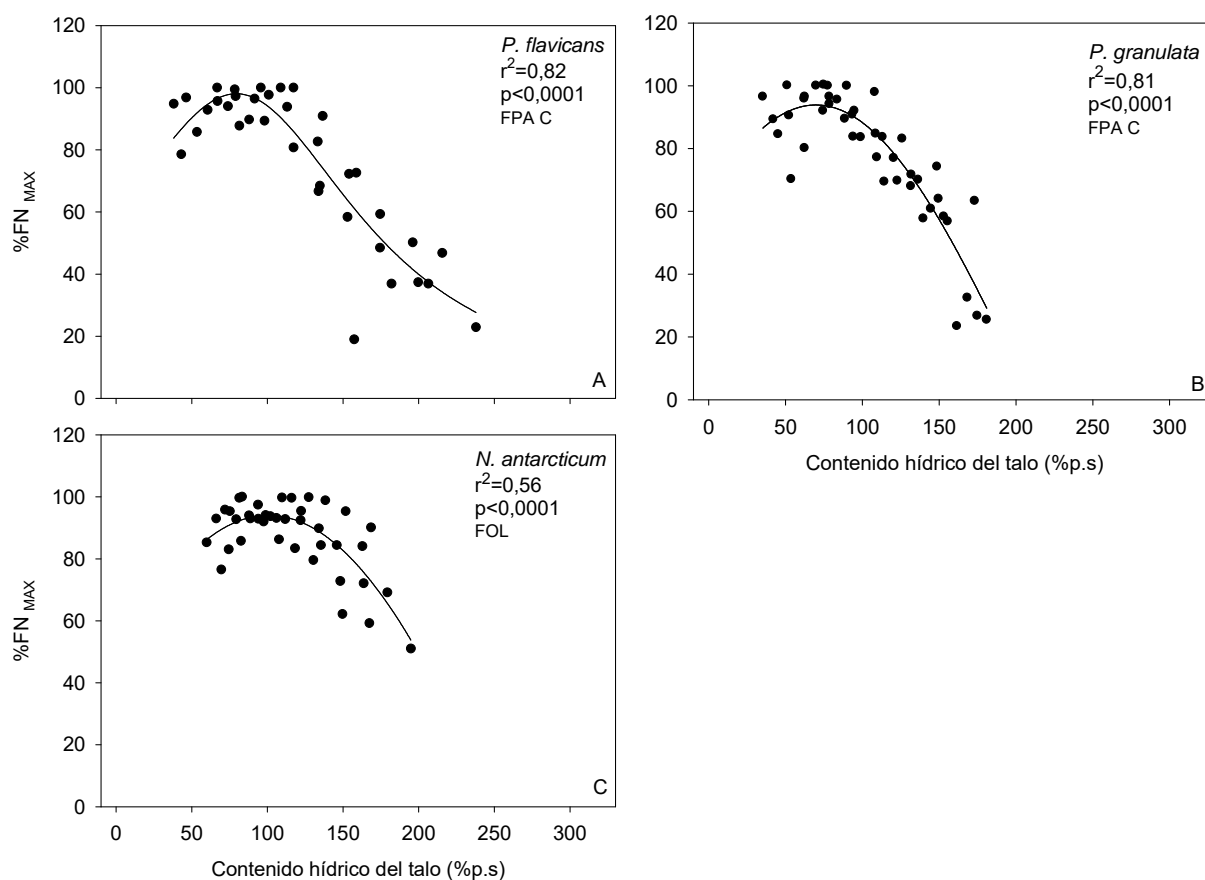


Figura 5. Porcentaje de Fotosíntesis Neta máxima (%FN) frente al contenido hídrico (%p.s) a 15 °C y 200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en líquenes del bosque de araucarias. La grafica representa $n=4$ en *P. flavicans* (A) y *N. antarcticum* (C) y $n=5$ en *P. granulata* (B).

La Tabla 2 muestra los valores de máxima tasa Fotosintética Neta (FN), respiración en oscuridad (RO) y fotosíntesis bruta (FB) para todas las especies a 15 °C. El valor de FN difirió en el grupo de líquenes estudiados (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p<0,001$; $H= 34,93$; $gl=9$). *S. ainoae* ($3,00\pm0,45 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), y las tres especies del bosque de araucaria *P. flavicans* ($2,26\pm0,69 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$), *P. granulata* ($2,32\pm0,38 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y *N. antarcticum* ($2,96\pm0,41 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) presentan las mayores tasas de FN. A pesar de tener valores de FN superiores al resto de especies del bosque mixto, no conforman un grupo estadísticamente consolidado con claridad entre ellas. El valor más bajo de FN lo presentaron *P. divulsa* $0,79\pm0,05 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y *L. tenerum* $0,72\pm0,06 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Cabe destacar que *S. ainoae* alcanza el doble del valor de FN cuando el estadístico se realiza sólo en las especies del bosque mixto diferenciando a esta especie del resto (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p<0,001$; $H= 25,14$; $gl=6$). Las especies del bosque de araucaria no presentaron

diferencias de FN entre ellas ($p=0,575$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$), dando una idea de comportamiento homogéneo respecto a FN.

Los valores de RO difirieron en el grupo de líquenes estudiados (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p=0,001$; $H=27,37$; $gl=9$). *L. tenerum* presentó el valor más bajos de este parámetro $0,84\pm0,09 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ diferenciándose estadísticamente de todas las especies foliosas del bosque mixto pero no de las especies del bosque de araucaria ($F=6,87$; $p<0,001$; $\alpha=0,05$; $0,995$). El valor más alto de RO lo presentó *P. nitida* ($2,56\pm0,21 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$). El análisis por tipo de bosque revela diferencias entre las especies del bosque mixto con las mismas especies diferenciales ($p<0,001$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$). En tanto, las especies del bosque de araucaria no presentaron diferencias de RO entre ellas ($p=0,77$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$), sugiriendo de nuevo una idea de compactación interna a nivel del metabolismo del carbono. Cabe destacar, que se pudo observar un aumento de RO frente a WCmax en las especies estudiadas, resultando una relación lineal positiva entre estos dos parámetros ($R^2=0,49$; $p<0,001$; Figura 8).

Los valores de Fotosíntesis Bruta (FB) difirieron en el grupo de líquenes estudiados (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p=0,002$; $H=27,37$; $gl=9$). El valor más bajo lo presentó *L. tenerum* $1,69\pm0,13 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y el más alto *S. ainoae* $5,87\pm0,65 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, ambas especies pertenecen al bosque mixto. El análisis estadístico por tipo de bosque reveló que *S. ainoae* se diferenció de todas las especies del bosque mixto (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p<0,001$; $H=23,45$; $gl=6$). Las especies del bosque de araucaria no presentaron diferencias de FB entre ellas ($p=0,82$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$).

Los valores del punto de compensación de luz (PCL), punto de saturación (PSL) y rendimiento cuántico (Φ) para las especies de ambos bosques se resumen en la Tabla 2. Los valores de PCL, difirieron en el grupo de líquenes tratados ($p<0,001$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$). El valor medio de las especies estudiadas osciló entre $29\pm2 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en *S. caulescens* y $84\pm6 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ en *P. divulsa*, ambas del bosque mixto.

El rango de PCL en las especies del bosque mixto fue bastante variable cuando se analizó por separado, presentando diferencias significativas entre las especies, diferenciando a *S. caulescens* y *S. ainoae* (valores inferiores) y a *P. divulsa* con el valor más alto ($p<0,001$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$). Las especies del bosque de araucaria no presentaron diferencias de PCL entre ellas (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p=0,33$; $H=2,403$; $gl=2$). Los valores PSL, difieren en el grupo de líquenes tratados ($p<0,001$; *ANOVA*; $\alpha=0,050$).

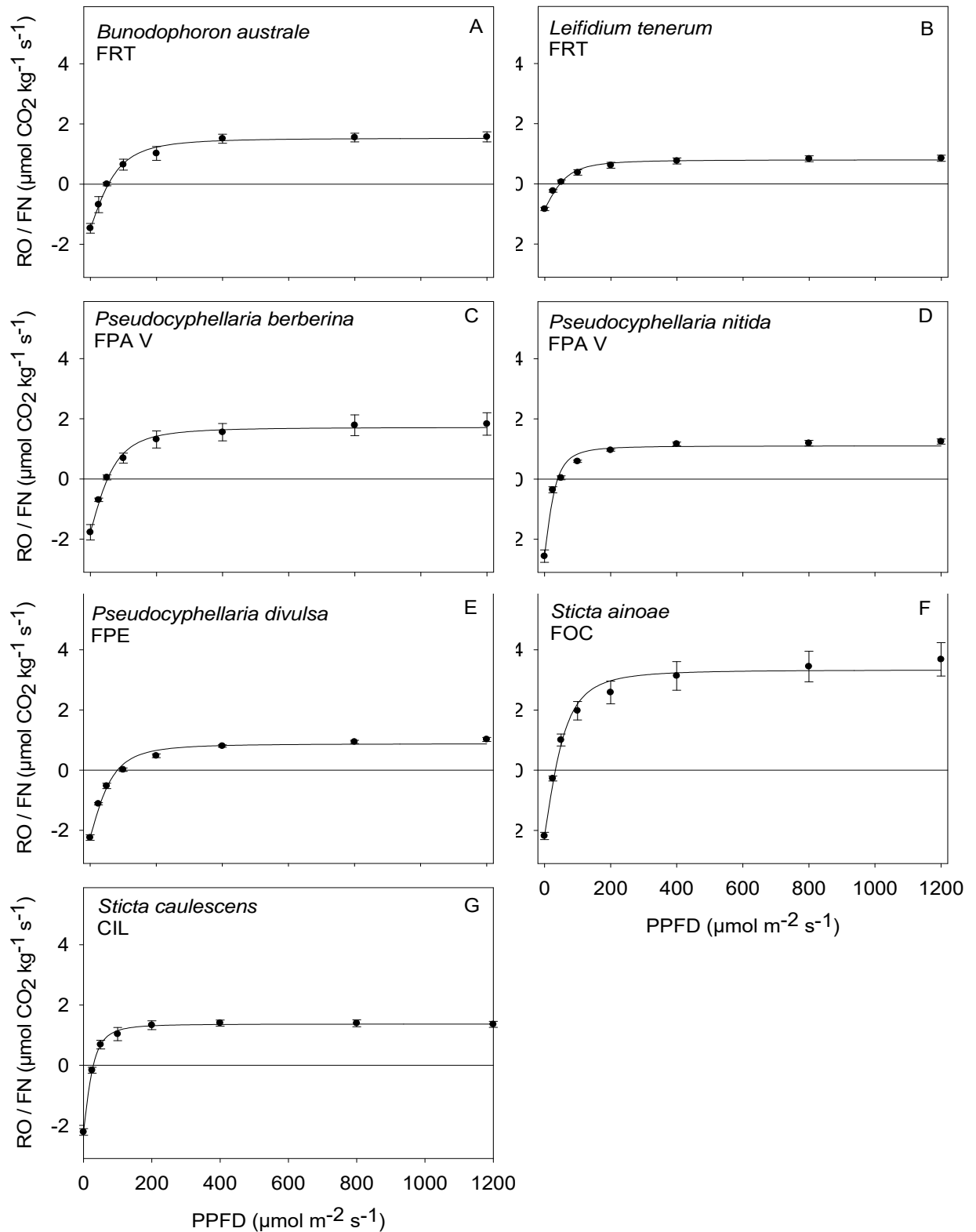


Figura 6. Respuesta de la fotosíntesis neta (FN) y de la respiración en oscuridad (RO) en función de la luz incidente (25, 50, 100, 200, 400, 800, 1200 PPFD) a 15 °C y óptimo contenido hídrico de líquenes del bosque mixto. Los puntos medidos fueron ajustados según la función de Smith. Media

\pm ES (n=4) en *B. australe*, *P. berberina*, *P. nitida*, *P. divulsa* y *S. caulescens*. Media \pm ES (n=5) en *L. tenerum* y *S. ainoae*.

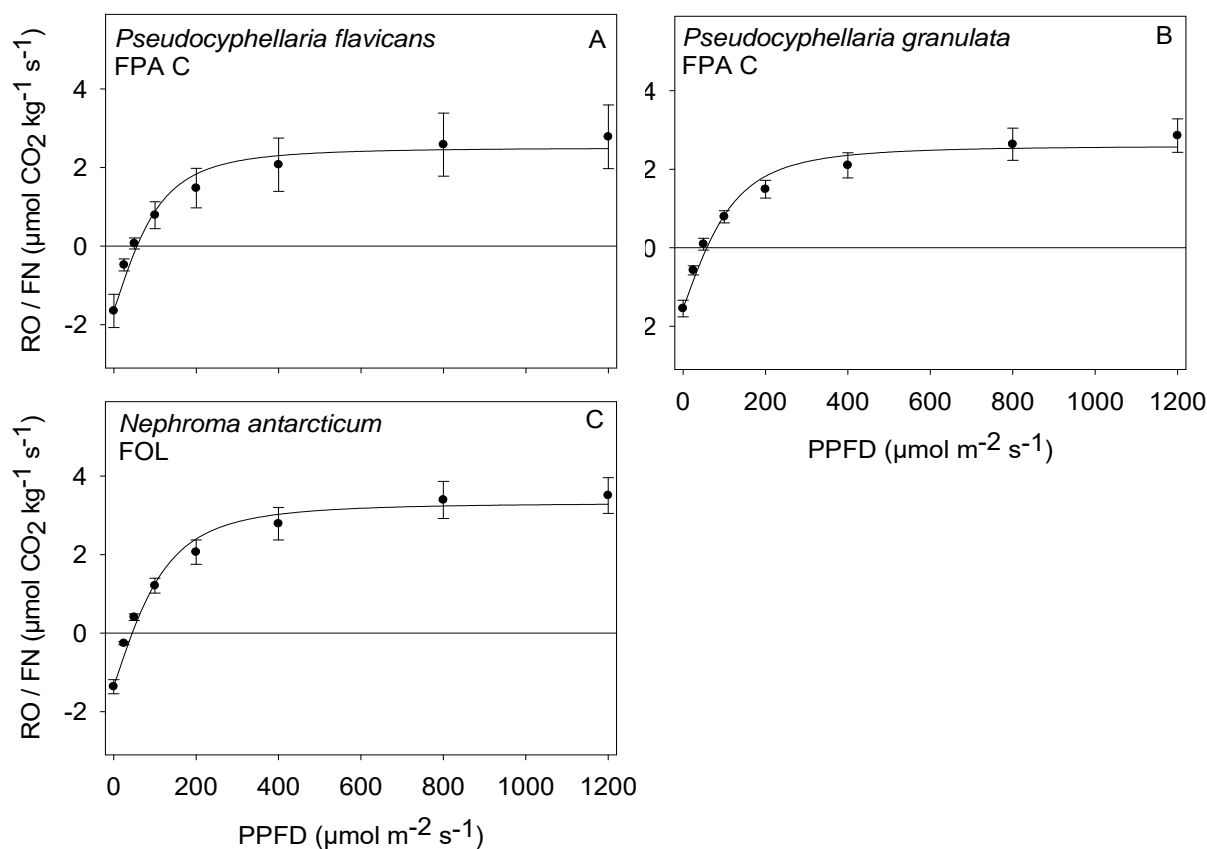


Figura 7. Respuesta de la fotosíntesis neta (FN) y de la respiración en oscuridad (RO) en función de la luz incidente (25, 50, 100, 200, 400, 800, 1200 PPFD) a 15 °C y óptimo contenido hídrico de líquenes del bosque de araucaria. Los puntos medidos fueron ajustados según la función de Smith. Media \pm ES (n=4) en *P. flavicans* y *N. antarcticum*. Media \pm ES (n=5) en *P. granulata*.

Tabla 2. Tasas de fotosíntesis neta (FN), respiración en oscuridad (RO), fotosíntesis bruta (FR), punto de compensación de luz (PCL), punto de saturación de luz (PSL) y rendimiento cuántico (Φ) para todas las especies evaluadas. Las unidades se expresan en $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Media \pm ES (n=4) en *B. australe*, *P. berberina*, *P. nitida*, *P. divulsa*, *P. flavicans* y *N. antarcticum*. Media \pm ES (n=5) en *L. tenerum*, *S. ainoae*, *S. caulescens* y *P. granulata*.

Tipo de bosque	Especies	FN (15 °C)	RO (15 °C)	FB	PCL ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	PSL ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Φ	R ²	p
bosque mixto	<i>B. australe</i>	1,37±0,16 ab	1,47±0,16 ab	3,04±0,24 ab	55±10 b	287±43 bcde	0,03±0,01 a	0,98	<0,0001
	<i>L. tenerum</i>	0,72±0,06 a	0,84±0,09 a	1,69±0,13 a	48±4 ab	241±19 abcd	0,02±0,00 a	0,99	<0,0001
	<i>P. berberina</i>	1,54±0,31abc	1,77±0,26 bc	3,60±0,60 abc	52±2 b	263±7 bcde	0,04±0,02 a	0,99	<0,0001
	<i>P. nitida</i>	0,99±0,07 ab	2,56±0,21 c	3,81±0,13 abc	40±3 ab	160±16 ab	0,09±0,01 c	0,98	<0,0001
	<i>P. divulsa</i>	0,79±0,05 ab	2,24±0,09 bc	3,26±0,06 ab	84±6 c	324±26 cde	0,04±0,01 ab	0,98	<0,0001
	<i>S. ainoae</i>	3,00±0,45 c	2,19±0,12 bc	5,87±0,65 c	33±3 a	206±16 abc	0,07±0,01 bc	0,99	<0,0001
	<i>S. caulescens</i>	1,23±0,09 ab	2,22±0,11 bc	3,73±0,15 abc	29±2 a	129±6 a	0,09±0,01 c	0,97	<0,0001
bosque de araucaria	<i>P. flavicans</i>	2,26±0,69 abc	1,66±0,42 abc	4,43±1,18 bc	59±5 bc	357±31 de	0,03±0,01 a	0,97	<0,0001
	<i>P. granulata</i>	2,32±0,38 bc	1,55±0,21 ab	4,17±0,5 bc	57±8 b	361±38 e	0,03±0,00 a	0,97	<0,0001
	<i>N. antarcticum</i>	2,96±0,41 c	1,36±0,18 ab	4,87±0,59 bc	45±2 ab	356±29 de	0,03±0,01 a	0,98	<0,0001

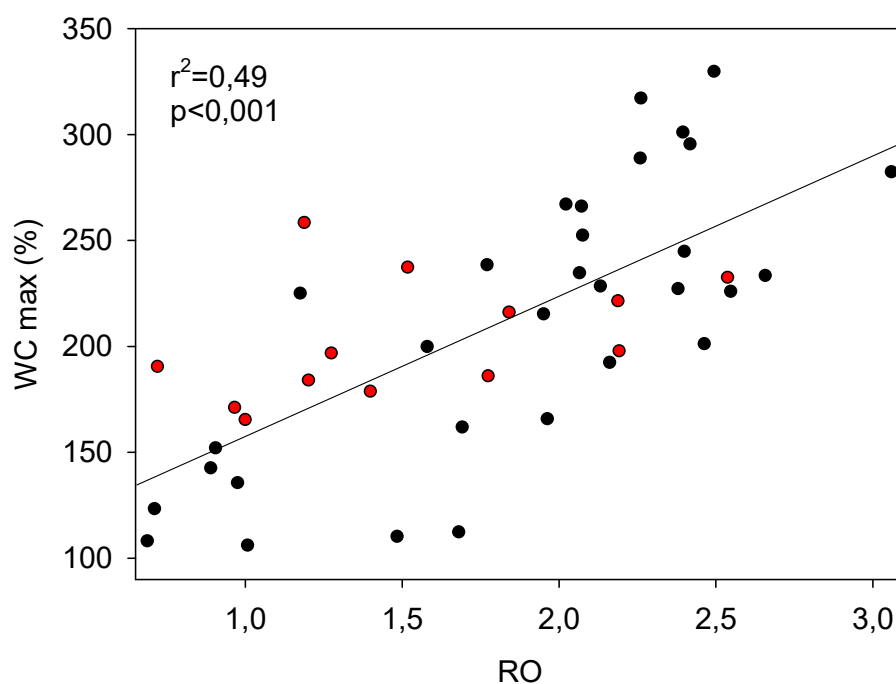


Figura 8. Relación entre el máximo contenido hídrico (%) frente a la respiración en oscuridad (RO). Círculos negros corresponden a las especies del bosque mixto y círculos rojos corresponden a las especies del bosque de araucaria. n=44

El valor medio de las especies estudiadas osciló entre $129 \pm 6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en *S. caulescens* del bosque mixto y $361 \pm 38 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ en *P. granulata* del bosque de araucaria. El rango de PSL en las especies del bosque mixto fue variable cuando se analizó por separado, presentó diferencias significativas entre las especies ($p < 0,001$; ANOVA; $\alpha = 0,050$), agrupando a *S. caulescens*, *P. nitida* y *S. ainoae* (menores valores) y a *P. divulsa*, *B. australe*, *P. berberina* y *L. tenerum* con el valor más alto. Las especies del bosque de araucaria no presentaron diferencias de PSL entre ellas, y aunque presentaron los valores más altos de todo el set a estudio, las diferencias no fueron significativas respecto a todas las especies medidas en el bosque mixto ($p = 0,99$; ANOVA; $\alpha = 0,050$). Como se observa en la Figura 9, hubo una relación lineal positiva entre PSL y PCL ($R^2 = 0,64$) para todas las especies tratadas. Los valores medios de PSL y PCL sin transformación $y = x^2$ son resumidos en la tabla 2.

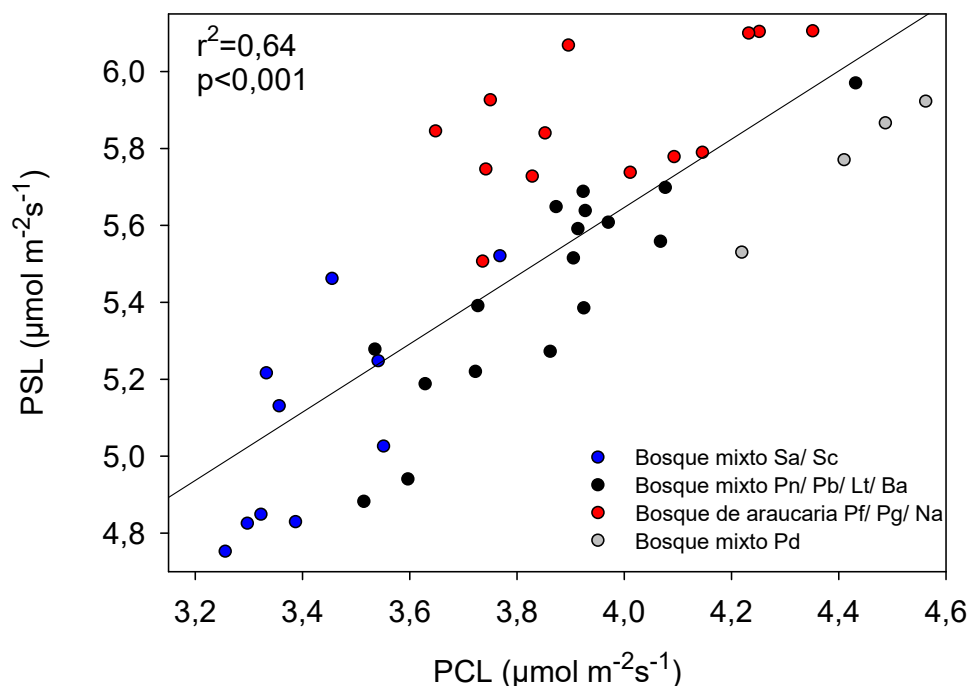


Figura 9. Relación entre el punto de saturación de luz (PSL) frente al punto de compensación de luz (PCL). Los valores de la escala corresponden a la transformación $\ln(x)$ para lograr que los datos se ajusten a una distribución normal. Círculos negros-azules-grises corresponden a las especies del bosque mixto y círculos rojos corresponden a las especies del bosque de araucaria. *Sticta ainoae* (Sa), *Sticta caulescens* (Sc); *Pseudocyphellaria nitida* (Pn), *Pseudocyphellaria berberina* (Pb), *Leifidium tenerum* (Lf), *Bunodophoron australe* (Ba), *Pseudocyphellaria flavicans* (Pf), *Pseudocyphellaria granulata* (Pg), *Nephroma antarcticum* (Na) y *Pseudocyphellaria divulsa* (Pd). $n=44$

Los valores de la eficacia cuántica o rendimiento cuántico (Φ), indicador de la capacidad del aparato fotosintético para aprovechar la luz incidente (Kershaw, 1985), difieren en el grupo de líquenes tratados (Tabla 2, $p < 0,001$; ANOVA; $\alpha = 0,050$). El valor medio más alto lo presentaron las especies del bosque mixto *S. caulescens*, *P. nitida* y *S. ainoae* ($0,09 \pm 0,01$ - $0,07 \pm 0,01$), las que se diferenciaron de todas las especies estudiadas. El valor más bajo lo presentaron las tres especies del bosque de araucaria (que volvieron a mostrar compactación estadística interna respecto al uso de la luz) y *L. tenerum* del bosque mixto ($0,02 \pm 0,00$ - $0,03 \pm 0,01$). En la Figura 10 se observa una relación lineal negativa entre el rendimiento cuántico (Φ) frente punto de saturación de luz (PSL) del set de líquenes de ambos bosques ($R^2 = 0,62$, $p = 0,007$). Donde un incremento en PSL produce una disminución en Φ . Los valores de la escala corresponden a la transformación $y = x^2$ para lograr que los datos se ajusten a una distribución normal.

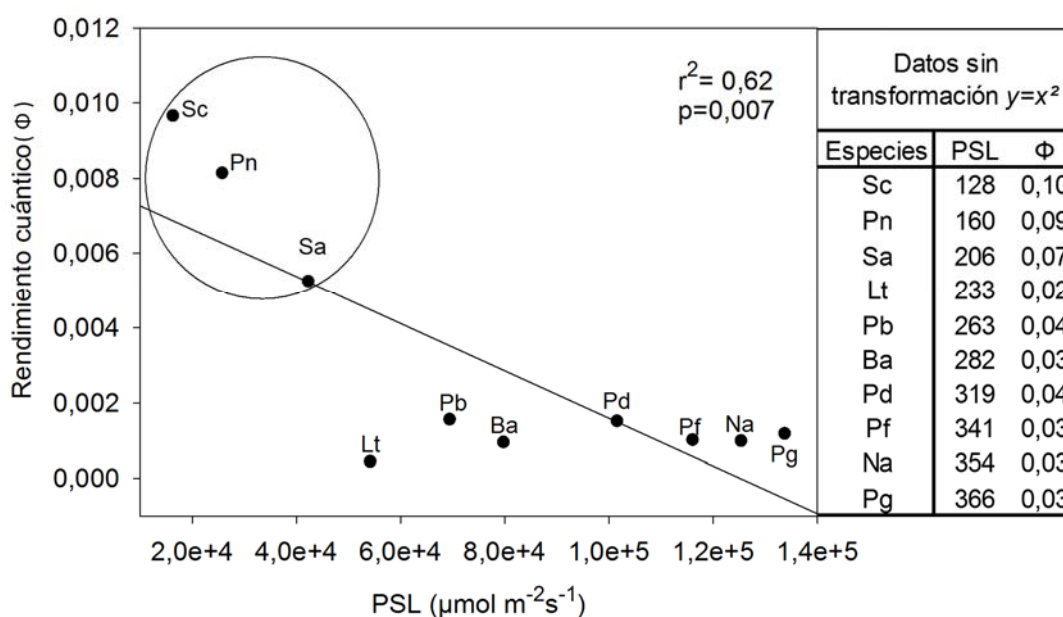


Figura 10. Relación entre rendimiento cuántico (Φ) frente punto de saturación de luz (PSL) del set de líquenes de ambos bosques. Las especies dentro del círculo se diferencian de todo el grupo tratado respecto a Φ ($p < 0,001$; ANOVA; $\alpha = 0,050$). Los valores de la escala corresponden a la transformación $y = x^2$ para lograr que los datos se ajusten a una distribución normal. Media \pm ES ($n=4$) en *Bunodophoron australe* (Ba), *Pseudocyphellaria berberina* (Pb), *Pseudocyphellaria nitida* (Pn), *Pseudocyphellaria divulsa* (Pd), *Pseudocyphellaria flavicans* (Pf) y *Nephroma antarcticum* (Na). Media \pm ES ($n=5$) en *Leifidium tenerum* (Lf), *Sticta ainoae* (Sa), *Sticta caulescens* (Sc) y *Pseudocyphellaria granulata* (Pg).

Cuando representamos los valores de la respuesta de FN frente a la luz a 15°C en función de la superficie, las especies del bosque mixto (Figura 11A) presentan igual comportamiento que las medidas obtenidas en función de peso seco, así *S. ainoae* presenta el mayor rendimiento por unidad de superficie del set tratado con un valor máximo de $2,36 \mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Las especies del bosque de araucaria (Figura 11B) presentan mayor FN por unidad de superficie que las especies del bosque mixto, destacando *N. antarcticum* con un valor máximo de $5,83 \mu\text{mol CO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

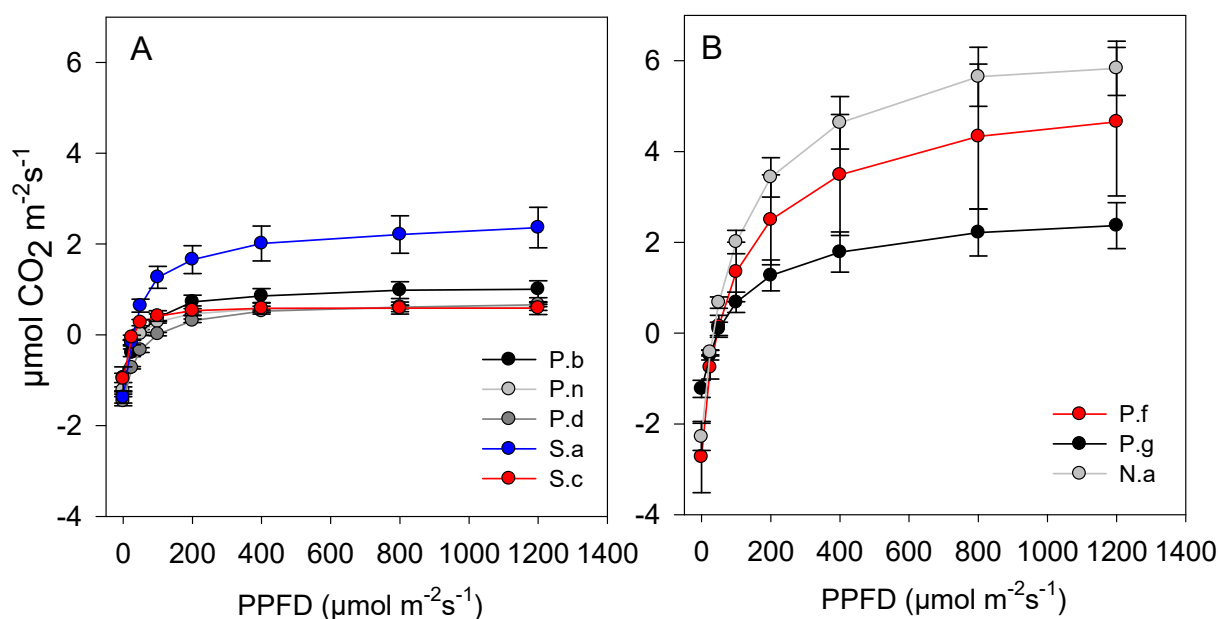


Figura 11. Curvas de respuesta de FN frente a la luz incidente (PPFD) evaluadas a 15°C en función del área. A corresponden a las especies del bosque mixto y B corresponden a las especies del bosque de araucarias. Media \pm ES (n=4) en *Pseudocyphellaria berberina* (Pb), *Pseudocyphellaria nitida* (Pn), *Pseudocyphellaria divulsa* (Pd), *Pseudocyphellaria flavicans* (Pf) y *Nephroma antarcticum* (Na). Media \pm ES (n=5) en *Sticta ainoae* (Sa), *Sticta caulescens* (Sc) y *Pseudocyphellaria granulata* (Pg).

Concentración de pigmentos

Respecto a la concentración de pigmentos fotosintético el contenido de clorofila total ($a+b$) y carotenos en mg/g para todas las especies estudiadas se resumen en la Figura 12. La concentración de clorofilas difirió en el grupo de líquenes estudiados (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H = 28,064$; $gl = 9$). *Sticta ainoae*, *P. berberina* (bosque mixto) y *N. antarcticum* (bosque de araucaria) presentaron la mayor concentración de este pigmento ($2,04 \pm 0,21$ mg/g, $1,45 \pm 0,23$

mg/g, $1,34 \pm 0,18$ mg/g, respectivamente), pero de las tres especies mencionadas sólo *S. ainoae* se diferenció estadísticamente del resto de especies estudiadas. El valor más bajo lo presentaron *B. australe* ($0,65 \pm 0,09$ mg/g) y *P. granulata* ($0,76 \pm 0,29$ mg/g). Los datos de clorofila sugieren una elevada heterogeneidad general sin diferencias claras entre especies salvo para *S. ainoae*. La concentración de carotenos también difiere en el grupo de líquenes tratados (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H = 34,852$; $gl = 9$). *P. flavicans* (bosque de araucaria), *P. berberina* y *S. ainoae* (bosque mixto) presentaron la mayor concentración de este pigmento ($2,92 \pm 0,33$ mg/g, $2,23 \pm 0,17$ mg/g, $1,85 \pm 0,18$ mg/g, respectivamente) diferenciándose de todo el grupo tratado. El valor más bajo lo presentaron *B. australe* ($0,66 \pm 0,09$ mg/g), *P. nitida* ($0,70 \pm 0,21$ mg/g) y *S. caulescens* ($0,96 \pm 0,47$ mg/g). La concentración de clorofilas siempre es superior a la concentración de carotenos en las especies del bosque mixto, a excepción de *P. berberina* ($p = 0,001$, *t-test*, $t = -5,67$; $gl = 6$). En cuanto a las especies del bosque de araucaria, todas han presentado mayor concentración de carotenos que clorofilas, destacando diferencialmente *P. flavicans* ($p < 0,001$, *t-test*, $t = -9,015$; $gl = 6$).

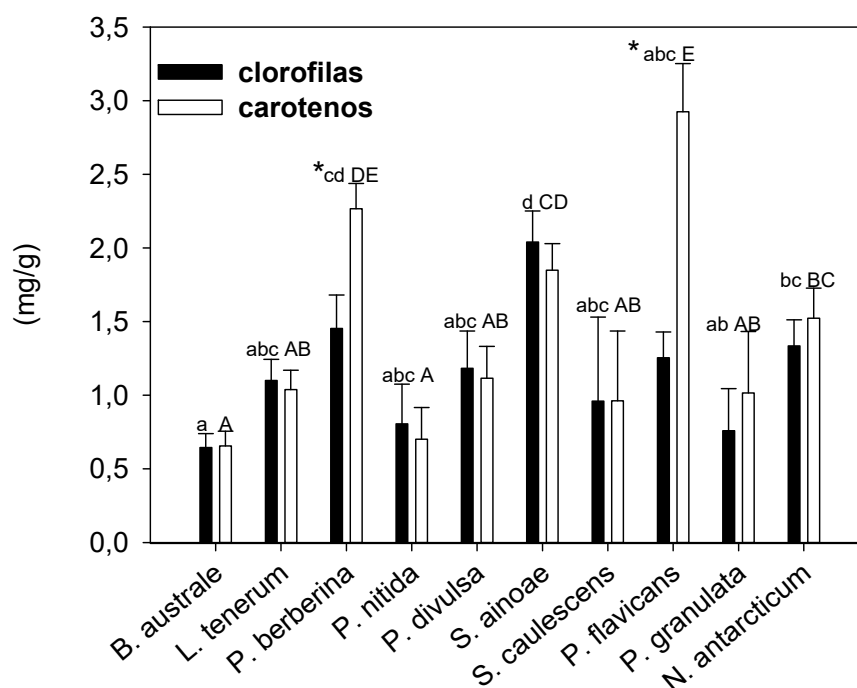


Figura 12. Concentración de clorofila total ($a+b$) y carotenos (mg/g). Las diferencias significativas en la concentración de clorofilas son indicadas con diferentes letras minúsculas. Distintas letras mayúsculas indican diferencias significativas en la concentración de carotenos. Asteriscos (*) indican diferencias significativas entre el valor medio de ambos pigmentos por especie. Media \pm ES ($n=4$) en *B. australe*, *P. berberina*, *P. nitida*, *P. divulsa*, *P. flavicans* y *N. antarcticum*. Media \pm ES ($n=5$) en *L. tenerum*, *S. ainoae*, *S. caulescens* y *P. granulata*.

DISCUSIÓN

Los resultados ecofisiológicos aquí registrados aportan información inédita sobre el comportamiento de siete especies de macrolíquenes epífitos de un bosque siempreverde de la cordillera de la costa de la región valdiviana. La ecofisiología de los líquenes en Chile ha sido escasamente estudiada (Atala *et al.*, 2015). Los estudios se han centrado especialmente en aspectos sistemáticos y algunos aspectos ecológicos (Galloway 1992, 1994; Stenroos, 1995; Wedin, 1995; Gatica *et al.*, 2011; Quilhot *et al.*, 2012; Pereira *et al.*, 2014; León *et al.*, 2016). Sin embargo, la respuesta ecofisiológica de estos organismos al ambiente no sido estudiada aún, lo que se manifiesta en un vacío de información respecto al nivel de adaptabilidad, así como a la aportación de estos líquenes al balance de carbono dentro de los bosques templados de Chile. Respecto a su adaptabilidad, cabe destacar su susceptibilidad al estrés (aun cuando han mostrado una amplia versatilidad fisiológica) representada por factores como su sensibilidad frente a la desecación. Esta sensibilidad se vio reflejada, por ejemplo en la respuesta de los cianolíquenes (*Pseudocyphellaria coerulescens* y *Sticta canlescens*) frente a la simulación de cambio de las relaciones hídricas que confirman alta fragilidad tras una disminución rotunda del rendimiento fotosintético (Fv/Fm) a trece días de exposición a estrés (Capítulo 2). De este tipo de estudios se obtiene información valiosa relacionada con la respuesta de los organismos estudiados a posibles cambios ambientales. Nuestros resultados confirman por una parte, adaptaciones según el grupo funcional en el set analizado. Líquenes fruticulosos (principalmente *B. australe*), *Sticta canlescens* (cianolíquen), *Sticta ainoae* (líquenes foliosos con cifelas; FOC) mostraron mayor tolerancia de FN a altos contenidos hídricos. Por otro lado, el resto de líquenes foliosos presentaron mayor depresión de fotosíntesis frente a altos contenidos hídricos. Además, nuestros resultados confirman adaptaciones de algunas de las especies del bosque mixto a bajas intensidades de luz (Por ejemplo, *S. canlescens* y *P. nitida* presentaron puntos de compensación de 29 ± 2 y $40 \pm 3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectivamente). Esto también se reflejó en un máximo rendimiento de actividad (FN máxima) en un breve periodo, combinado con puntos de saturación y de compensación a baja intensidad de luz. Sin embargo, algunas especies como *P. divulsa* presentó requisitos de luz de alguna manera más altos dentro del bosque mixto. Por lo que la comparación con líquenes de similares características morfológicas (por ejemplo, foliosos, con estructuras facilitadoras de intercambio gaseoso) de un bosque con dosel abierto (bosque de *Araucaria araucana* en la precordillera de los Andes) mostró de forma más clara la relación entre los rasgos de adaptación de estos líquenes con diferentes requerimientos hídricos e intensidad lumínica.

Curvas de deshidratación

La evolución de FN frente al contenido hídrico se resumen en las Figuras 4A-4G. Este tipo de estudios han sido fundamentales para entender el comportamiento funcional de los líquenes en su entorno. Distintos estudios han dejado claro que hay una notable diversidad en la curva de respuesta de FN frente al contenido hídrico en líquenes (Snelgar *et al.*, 1980; Sancho & Kappen 1989; Lange *et al.*, 1993ab). Según nuestros resultados, las especies se han dividido en tres grupos principales que coinciden con aspectos funcionales (Lakatos *et al.*, 2006). Las curvas de deshidratación muestran tendencias comunes entre *Sticta caulescens* (Figura 4A; CIL) y *Sticta ainoae* (Figura 4G; FOC). Desde aquí en adelante llamado Grupo 1. Estas especies presentan FN positiva a altos contenido hídricos y presentan una leve depresión fotosintética bajo esas condiciones. Sin embargo, estas especies se diferencian en la amplitud del periodo de actividad. *S. caulescens* presenta un breve periodo de actividad que a 36 minutos de deshidratación, cayendo a los pocos minutos de llegar hasta ese optimo (Tabla 1). *S. ainoae* de forma contraria, presenta un amplio periodo de actividad en relación a la media registrada en todo el set tratado en el bosque mixto. La respuesta de estas especies también se correlaciona con la ecología observada (Capítulo 1). Ambas especies coinciden exclusivamente en la base de *Notofagus nitida* bajo condiciones de alta humedad y zona menos expuesta del bosque. Además, aunque no se apoya estadísticamente la tendencia de ambas especies parece demandar contenidos hídricos más altos que las otras especies tratadas (excepto *P. divulsa*), especialmente en el caso de *S. caulescens* (cianolíquen), que requiere agua líquida para una fotosíntesis neta positiva (Lange *et al.*, 1988, 1993). La escorrentía fustal, por tanto, facilitaría la obtención de agua líquida adicional para esta especie. Además, a nivel del suelo este tipo de bosque presenta alta humedad relativa, (Datos microclimáticos capítulo 1, Woda *et al.*, 2006), protegiendo a los talos de estas especies de la pérdida de agua. Finalmente, en la Figura 4 podemos ver que la depresión de fotosíntesis afecta más a las especies de *Pseudocyphellaria* que a las especies de *Sticta*. Esto sugiere que el género *Sticta* puede ser favorecido por cifelas que promueven el intercambio gaseoso (Snelgar & Green, 1980; Lange *et al.*, 2004). Sin embargo, y coincidiendo con Green *et al.*, (1994) experimentos específicos que incluyan más especies del grupo serían necesarios para aclarar estos resultados. Grupo 2 incluye a las especies *Pseudocyphellaria berberina* (Figura 4C; FPAV), *Pseudocyphellaria nitida* (Figura 4D; FPAV) y *Pseudocyphellaria divulsa* (Figura 4D; FPE). En ambos grupos (1 y 2) se evidencia claramente depresión de la fotosíntesis a altos contenidos hídricos que coincide con la bibliografía existente en líquenes foliosos de la familia Lobariaceae (Snelgar *et al.*, 1981; Green *et al.*, 1993). Esta depresión fotosintética ha sido explicada como una resistencia a la difusión del CO₂ en talos saturados con agua (Green *et al.*, 1994; Lange *et al.*, 1993a, 1995, 1996). Limitación que hacen frente principalmente, mediante poros de intercambio gaseoso

(puntualmente pseudocifelas en el grupo de especies de *Pseudocyphellaria*; Green *et al.*, 1981). Por otra parte, han mostrado altos requerimientos hídricos para FN positiva pero en menor porcentaje que el Grupo 1. Los valores negativos de actividad a máximos contenidos hídricos en *P. nitida* se deben a una mayor intensidad en la depresión de la difusión del CO₂. La respuesta del grupo 2 también se relaciona con su ecología, ya que las tres especies se ubican en las zonas media del fuste del árbol (60-180 cm del suelo; Detalles en Capítulo 1), zonas de mayor exposición que el grupo 1 y en consecuencia mayor probabilidad de deshidratación. Pese al alto porcentaje de precipitaciones en el área de estudio pueden ocurrir períodos de sequía en el verano debido a la heterogeneidad anual de las precipitaciones (Woda *et al.*, 2006). Aquí la neblina cumple un rol importante como una fuente adicional de agua para la vegetación, especialmente para las epífitas poiquilohídricas. Especialmente en verano es un aporte crucial para sostener la actividad de estas epífitas durante este período crítico (Woda *et al.*, 2006). Este hecho podría explicar el mayor número de clorolíquenes respecto a cianolíquenes, ya que los líquenes con algas verdes como fotobionte principal son capaces de activar su metabolismo sin necesidad de agua líquida (Pintado & Sancho 2002; Green *et al.*, 2011), utilizando todas las fuentes de hidratación disponible y son por tanto reconocidos como un grupo más generalizado (Gauslaa, 2014). Los cianolíquenes por el contrario, requieren agua líquida como lluvia o rocío para iniciar la fotosíntesis normal (Lange *et al.*, 1993, Marini *et al.*, 2011). Finalmente Grupo 3, incluye a las especies *Bunodophoron australe* (Figura 4A; FRT), y *Leifidium tenerum* (Figura 4B; FRT), en ambos casos se encontró depresión de FN a altos contenidos hídricos pero menos evidente que el Grupo 2. La principal diferencia de este grupo estuvo dada por un FN positiva a bajos contenidos hídricos. De forma más clara en *B. australe* especie que además presentó el periodo más breve de actividad dentro del set estudiado (Tabla 1; t (min) FN Opt.). Estas especies también coinciden ecológicamente, ambas crecen en la zona media del fuste del árbol (60-180 cm del suelo), donde principalmente se ha observado mayor ocurrencia de destellos de luz. Este microhábitat es compartido con el grupo 2 sin embargo, se ha separado de él por tratarse de un grupo funcional diferente.

Los grupos muestran una diversidad en cuanto a la respuesta de FN frente al contenido hídrico en líquenes del bosque mixto. Sin embargo, cuando las comparaciones se realizan con especies que poseen diferente aporte hídrico (bosque de araucaria, Figura 2), se pone de manifiesto que las especies del bosque mixto se relacionan más entre ellas. Por ejemplo el tiempo en que se mantienen en el óptimo fotosintético es menor comparativamente en el bosque mixto (excepto entre *S. ainoae* del bosque mixto y *P. flavicans* del bosque de araucaria, Tabla 1; t (min) FN Opt.) pues las especies del bosque mixto no necesitan retener tanta agua al estar ésta frecuentemente disponible (Tabla 1; Woda *et al.*, 2006), diferenciándose significativamente de un grupo con mayor

adaptación a alta radiación. En las tres especies del bosque de araucaria se observa depresión de fotosíntesis a altos contenidos hídricos pero inferior al grupo 2 (a pesar de pertenecer al mismo grupo morfológico, Figura 5). Por otro lado, estas especies muestran tiempos de retención de agua más largos (excepto *S. ainoae*, mostrado en la Tabla 1 respecto al tiempo en minutos en que se mantienen en el óptimo fotosintético), pudiendo proporcionar un mayor periodo de actividad. Además muestran una activación más lenta que las especies del bosque mixto, apoyados en el tiempo en el que logran el óptimo fotosintético (Tabla 1). Dicho tiempo para llegar al óptimo fotosintético es distinto respecto a las especies del bosque mixto (*Kruskal-Wallis ANOVA on Ranks*; $p < 0,001$; $H = 41,117$; $gl = 9$), comprable en este sentido, solo con *P. berberina* y *P. nitida* pero con periodos de actividad más prolongados.

Las especies del bosque mixto han mostrado una elevada cobertura. Esto nos indica que los bosques siempreverdes nos ofrecen un ambiente favorable para estos organismos, coincidiendo con observaciones realizadas por Galloway (1997) en líquenes del bosque templado del sur de Chile. Por otra parte, la homogeneidad de este tipo de unidad boscosa (Woda *et al.*, 2006) y el hecho de que mismos microhábitats compartan especies con respuestas variadas de la fotosíntesis respecto al contenido hídrico, nos hace descartar la posibilidad de que la disponibilidad de agua en el ambiente sea la responsable de la existencia o ausencia de depresión fotosintética a alto contenido hídrico. En consecuencia, el desarrollo morfológico-anatómico para mejorar el aprovechamiento del agua parece jugar un papel importante en la optimización del equilibrio necesario frente a la desecación que causa la inactivación y la suprasaturación que limita la fotosíntesis (Lange *et al.*, 1993a, Lange *et al.*, 2001). Las especies foliosas del bosque mixto presentan un grosor más fino que las especies del bosque de araucaria, lo que según lo discutido en el capítulo 3 se traduce en una mayor capacidad de retención de agua (WHC) por parte de las especies de araucaria a través de, probablemente, una mayor inversión en masa seca (DM) (Gauslaa & Coxon, 2011). Nuestros resultados tanto de relaciones hídricas como t (min) FN Opt. en los líquenes del bosque de araucaria apoyan la idea de estrategias que favorezcan un periodo de actividad más prolongado por parte de estas especies (Tabla 1). En el caso de los líquenes del bosque mixto presenta un periodo de actividad más breve en el laboratorio lo que podría interpretarse en que el agua no es un factor limitante en su hábitat natural. Además, bajo condiciones naturales el secado lento de las especies del bosque mixto en comparación con las especies del bosque de araucaria (más iluminado), puede compensar parcialmente las bajas tasas fotosintéticas asociadas a las especies de sombra y que se discutirán en la siguiente sección. Nuestros resultados junto con la diversidad anatómica de los líquenes foliosos resumidos en el Capítulo 3 sugieren que los estudios futuros deben considerar cuidadosamente las propiedades estructurales para poder diferenciar estrictamente dentro de un

grupo y mejorar nuestra comprensión del funcionamiento ecofisiológico de estos líquenes que predominan el sotobosque de los bosques templados del sur de Chile.

Curvas de luz

Las curvas de respuesta a la luz nos permiten la evaluación cuantitativa del estado de adaptación de los organismos mediante la determinación de tasas de los procesos fotosintéticos bajo diferentes condiciones de luz (Green *et al.*, 1997; Zotz *et al.*, 1998; Lakatos *et al.*, 2006). La adaptación de macrolíquenes a un régimen de baja luz ha sido registrada previamente (Green *et al.*, 1997; Lange *et al.*, 2000, 2004; Lakatos *et al.*, 2006), sin embargo nuestros resultados hacen referencia a los primeros registros en bosques templados de Sudamérica. Se obtuvo un perfil diverso de respuesta a la luz en los líquenes del bosque mixto, coincidiendo con otros trabajos realizados en otras zonas templadas (Green *et al.*, 1997). Por otra parte, esperábamos que en la zona contraste, es decir un área con un dosel abierto como el bosque de araucaria, las especies presentasen diferencias concretas respecto a las del bosque mixto. Sin embargo, aun cuando las tendencias de los datos separan los grupos, diferenciando en muchos parámetros las especies de ambos bosques, la evaluación estadística nos indica que tales tendencias no tienen magnitud diferencial como para tratarlas como grupos diferentes. Basándonos en los resultados obtenidos por Green *et al.*, (1997) las especies del bosque de araucaria se ajustan más a una zona de tolerancia intermedia de luz y no de alta tolerancia como esperábamos (respuesta típica de líquenes de ramas expuestas al sol con distribución bajo el dosel).

Nuestros resultados indican que las especies de ambos bosques presentan en general un comportamiento homogéneo respecto a FN (Figura 6 y 7; Tabla 2). Las especies del bosque mixto (a excepción de *S. ainoae*) muestran en general bajos niveles de FN que reflejan en conjunto una mayor adaptación a la sombra. Sin embargo, *S. ainoae* presentó un valor no esperado de FN_{max} ($3,00 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), principalmente por la distribución que presenta dentro del bosque. Esta especie parece desarrollar una estrategia completamente distinta al resto de las especies del bosque mixto, desarrollándose exitosamente en la base de *Nothofagus nitida* donde alcanza alta cobertura y escaso número de especies de clorolíquenes asociadas (Capítulo 1). Esta zona del tronco inmediata al piso del bosque les ofrecería constante humedad, apoyada además, por la permanencia de zonas de encharcamientos de agua observadas en el campo. Esta mayor adaptación de *S. ainoae* también se vio reflejada en la mayor capacidad de retención de agua (76 ± 4 t (min) FN Opt.; Tabla 1) dentro del set de especies del bosque mixto.. Por otro lado las especies del bosque de araucaria presentaron valores mayores de FN_{max} que la mayoría de especies del bosque mixto (como se citó anteriormente la excepción es *S. ainoae*). Se comportan como un grupo bastante homogéneo, donde

N. antarcticum es la más diferencial respecto al bosque mixto pero no con *S. ainoae*. Ambas especies mantienen t (min) FN Opt. prolongados, aun cuando la cantidad de WCmax sea menor en los líquenes foliosos del bosque de araucaria.

La fotosíntesis y la respiración varían sustancialmente con el contenido hídrico, pero los patrones de respuestas muestran diferencias interespecíficas (Figura 4-5; Kershaw, 1985; Lange *et al.*, 1993a). Las tasas respiratorias más bajas fueron registradas en las especies fruticulosas y *P. berberina* del bosque mixto. El resto de especies de esta unidad forestal presentaron valores más altos y diversos ($1,77 \pm 0,26$ - $2,56 \pm 0,21$). Esta amplia diversidad de respuestas encontradas en los líquenes en cuanto a RO se vio relacionada con el WCmax. Según nuestros resultados se observó una relación donde a mayor valor WCmax mayor RO ($R^2 = 0,48$; $p < 0,001$; Figura 8) probablemente reflejando el aumento del metabolismo en el hongo (MacFarlane & Kershaw, 1982). En cuanto a las especies del bosque de araucaria, estas siendo también foliosas presentaron valores inferiores a las especies foliosas del bosque mixto, fluctuando entre $1,36 \pm 0,18$ y $1,66 \pm 0,42$. Los valores más bajos de RO podrían responder a una minimización del coste respiratorio por parte de estas especies para destinar más carbono en biomasa estructural que le permita una mayor retención de agua.

Los puntos de compensación (PCL) y saturación de luz (PSL) varían en las especies del bosque mixto reflejando diferentes adaptaciones (baja o media adaptación a la luz) que se resumen en la Tabla 2. De forma contraria las especies del bosque de araucaria mantienen una respuesta mucho más homogénea. El punto de saturación de luz se correlacionó positivamente con el punto de compensación (Figura 9) y nos da una idea de la adaptación a los diferentes microhábitats por parte de las especies tratadas. Así *Sticta ainoae* y *Sticta caulescens* (círculos negro de la Figura 9), muestran los puntos de compensación más bajos de todas las especies tratadas coincidiendo con la distribución dentro del área de estudio (base de *N. nitida*). PCL de estas especies coinciden con los valores registrados por Lange *et al.*, (2004) en varias especies de la familia Lobariaceae en un bosque tropical en Panamá, donde los puntos de compensación fluctuaron entre 12 - $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Otras investigaciones que apoyan esta adaptación a baja intensidad de luz por macrolíquenes foliosos fueron llevadas a cabo por Zotz *et al.*, (1998) quienes registraron valores de PCL de $35 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en *Sticta tomentosa* (cianolíquen) en Panamá. Finalmente Green *et al.*, (1997) cuyo trabajo se realizó en bosques templados de Nueva Zelanda nos dan una aproximación concreta de los valores mínimos de PCL en este tipo de bosque (4 a $29 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), coincidiendo con el rango obtenido en estas dos especies de *Sticta*. Cabe destacar que se ha registrado una adaptación a la sombra en bosques templados de Nueva Zelanda aún más sorprendente que las citadas anteriormente (Green

et al., 1991). Estos autores registraron en *Pseudocyphellaria dissimilis* un PCL de $1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ el régimen de luz más bajo que se haya informado en líquenes. Por otra parte, *P. nitida*, *P. berberina* y las dos especies del grupo fruticuloso presentan valores intermedios de compensación ($40 \pm 3 - 55 \pm 10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) coincidiendo también con la distribución dentro del fuste (círculos azules en la Figura 9). Con este grupo se podrían integrar y comparar los puntos de compensación de las especies del bosque de araucaria que, sorprendentemente presentaron valores de compensación más bajos de lo que esperábamos como grupo contraste ($45 \pm 2 - 59 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; círculos rojos en la Figura 9). Lo que indicaría que estas especies están activas en condiciones naturales a un nivel moderado de luz, característico de la exposición sur en *A. araucana* (Villagra, 2006). Finalmente *P. divulsa* presentó un punto de compensación mayor ($84 \pm 6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; círculos grises en la Figura 9) que solo se asemejó a *P. flavicans* ($59 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) del bosque de araucaria en cuanto a este parámetro. Los PSL de todas las especies del bosque mixto presentaron valores inferiores a $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a excepción de *Pseudocyphellaria divulsa* quien alcanzó $324 \pm 26 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Basándonos en Lange *et al.*, (2004) podemos considerar que las especies del bosque mixto exhiben características y adaptaciones típicas de plantas de sombra. Este autor encontró fluctuaciones en PSL entre $150-300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ junto con PCL bajos que concluye como indicadores de adaptaciones a baja intensidad de luz. *S. caulescens*, *P. nitida* y *S. ainoae* presentaron los valores más bajos $129-206 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En tanto los líquenes del bosque de araucaria que están en un ambiente más expuesto a la luz presentaron valores PSL entre $356-361 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Según Green *et al.*, (1997), estos últimos valores pueden considerarse como adaptación de luz intermedia ya que los valores se asemejan a los registrados en epífitos de ramas o de tronco de microhábitats expuestos medianamente a la sombra. Sin embargo, estos valores de PSL son algo diferentes a los registrados por estos mismos autores en las especies epífitas de ramas como *Usnea rubicunda* ($549 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) o líquenes del piso forestal expuestos al sol como *Cladia retipora* ($766 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Más aún las diferencias se apoyan cuando las comparaciones se realizan sobre foliosos adaptados a mayor intensidad de luz como por ejemplo las especies de alta montaña como *Umbilicaria grisea* y *U. freyi* las cuales presentan PSL entre $650-700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Sancho *et al.*, 1997) o como en *Dimelaena oreina* (especie crustácea con morfología distinta) y *Xanthoria elegans* las que presentan $788,42$ y $783,74 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente (Raggio, 2013).

Woda *et al.*, 2006 determinaron que la intensidad lumínica de la luz (IRL) predominante de este tipo de bosque, es decir, el porcentaje respecto de la iluminación solar total que alcanza la superficie bajo el dosel forestal alcanza más menos el 7% de IRL. Por lo que según nuestros resultados de RO los líquenes pueden compensar solo parte de sus pérdidas respiratorias con estos bajos niveles de radiación, por lo que el éxito descrito por Woda *et al.*, (2006) en biomasa (2 t ha^{-1}

sin considerar la biomasa en las copas de los árboles) y los altos registros de cobertura presentados en el capítulo 1 principalmente en las especies del género *Pseudocyphellaria* deben reflejar una combinación de estrategias que favorecen el crecimiento en hábitat donde la luz es limitante. En este sentido, se ha observado que en bosques tropicales durante el 1-10% del día la luz incidente es causada por destellos de luz intermitentes de 30 a 60 segundos aproximadamente (Chazdon, 1988), que pueden alcanzar valores de hasta $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Lakatos *et al.*, 2006). Los destellos de luz crean un patrón continuamente cambiante de sol y sombra, tanto dentro del dosel como en el sotobosque. En este escenario pueden aportar hasta el 80% de la densidad de flujo de fotones disponible para fotosíntesis por plantas de sotobosque (Chazdon, 1988, Leakey *et al.*, 2005), pudiendo mejorar significativamente la ganancia de carbono en los bosques sombreados (Way & Pearcy, 2012). De hecho Lakatos *et al.*, (2006) ha estimado que en un bosque tropical líquenes corticícolas pueden ganar entre el 50-100% de su fotosíntesis bruta durante un evento de destellos. En la Figura 10 se observa que *S. culescens*, *S. ainoae* y *P. nitida* presentan los valores más altos en cuanto al rendimiento cuántico (Φ) junto con los valores más bajos de PCL y de PSL. Según esto *S. ainoae* y *S. canlescens* especies adaptadas a la sombra serían más eficientes que las especies aclimatadas a la luz, incluso que el set de líquenes del bosque de araucaria. Esto nos da una idea de la adaptación de estas especies a la sombra, reflejada en la efectividad en el uso de fotones que nos sugiere una mayor eficiencia para aprovechar la luz incidente. Según la distribución de estas especies dentro del bosque, la radiación puede ser facilitada por porosidad del dosel que permita recibir a esos destellos de luz. La única excepción es *P. nitida*, especie que naturalmente se establece en las zonas medias del tronco, incluso en las zonas más expuestas del bosque..

Concentración de pigmentos

Nuestros resultados respecto a la concentración de clorofilas mostraron que esta fue similar en la mayoría de las especies (Figura 12), a excepción de *Sticta ainoae* que presentó una concentración 35% más alta que la siguiente especie de concentración más alta (*N. antarcticum*) y 68% mayor que la especie con menor concentración (*Bunodophoron australe*; bosque mixto). Nuestros resultados no expresan una típica adaptación de plantas de sol y sombra, es decir plantas de sombra con mayores contenidos de clorofila en función de peso seco que las plantas de sol (Björkman & Demmig-Adams, 1994; Tretiach & Brown, 1995). En este sentido, diversos autores han registrado cambios diarios y estacionales en el contenido de pigmentos fotosintéticos (Leisner *et al.*, 1994; Czezuga & Krukowska, 2001). Esto ha generado controversia a través de los resultados de muchos trabajos, principalmente por la interpretación en la concentración de estos pigmentos y fotosíntesis, ya que no existe una relación causal entre clorofila y fotosíntesis (Green & Lange, 1994). Sin

embargo, a menudo, mayores cantidades de clorofila se relacionan con mayores tasas fotosintéticas (Nash *et al.*, 1980; Raggio, 2013). Además, se deben tener en cuenta la ecología de las especies, ya que diferentes trabajos han demostrado diferencias claras en cuanto a la concentración de pigmentos respecto a la radiación, temperatura, contaminantes, y estrés hídrico y estacionalidad, entre otras (Legaz *et al.*, 1986; Pintado *et al.*, 1997; Gauslaa & Solhaug 1996; Garty *et al.*, 2001; Pisani *et al.*, 2007; Paoli *et al.*, 2010, Vivas *et al.*, 2017).

Pese a esto, en términos generales podemos observar dos tipos de tendencias en la concentración de pigmentos fotosintéticos. Una que está relacionado con la tendencia de mayor periodo de actividad (Tabla 1; Tiempo en el óptimo) junto con altos valores de FN (Tabla 2) registrados en las especies del bosque de araucarias, lo que nos sugiere un mejor aprovechamiento de este pigmento. Por otra parte, diversos estudios han demostrado que los carotenos protegen las células y los tejidos de los radicales, mediante su actividad antioxidante.. Por tanto, los valores superiores encontrados de este pigmento respecto a la concentración de clorofilas en el bosque de araucaria podrían responder a la mayor radiación que reciben estas especies sumado al menor aporte hídrico con el fin de proteger los tejidos del estrés oxidativo causado por los radicales altamente reactivos de oxígeno (ROS). Esto también podría justificar la mayor concentración de carotenos en *P. berberina* (bosque mixto), esta especie se encuentra en las zonas medias más expuestas del bosque donde se observaron mayores posibilidades de radiación y deshidratación. Esta especie también ha sido relacionada con una amplitud de sustratos pero principalmente con mayor intensidad de la luz (Galloway, 1997), por lo que esta mayor concentración puede ser ventajosa en el contexto de la fotoprotección principalmente a los destellos de luz que puedan ocurrir (Green *et al.*, 1997).

CONCLUSIONES GENERALES

DISTRIBUCIÓN HORIZONTAL Y VERTICAL DE MACROLÍQUENES EPÍFITOS EN UN BOSQUE SIEMPREVERDE DE LA CORDILLERA DE LA COSTA VALDIVIANA.

- La diversidad de especies presentes en el bosque siempreverde varía horizontalmente entre los forófitos estudiados, reuniendo la mayor diversidad de macrolíquenes en *Nothofagus nitida* (interior del bosque).
- La distribución de cianolíquenes y líquenes foliosos con cífelas es mayor en el estrato inferior más sombrío y de mayor humedad, mientras que la mayor distribución de clorolíquenes y especies indicadoras de zonas expuestas se reúne en el estrato superior.

RESPUESTA A LA DESECACIÓN PROLONGADA DE MACROLÍQUENES EPÍFITOS DEL BOSQUE SIEMPREVERDE TEMPLADO LLUVIOSO.

- Seis de ocho especies estudiadas mostraron una elevada sensibilidad a un periodo de trece días de desecación, entre ellos se encuentran todas las especies de cianolíquenes. Sin embargo, *Sticta ainoae* y *Pseudocyphellaria divulsa* mostraron daño por desecación a los 53 días de tratamiento.
- La disminución de F_v/F_m durante el periodo de desecación junto con un aumento de F_0 sugiere que el estrés hídrico podría estar generando un aumento de la fotoinhibición.
- Los líquenes del bosque siempreverde muestran adaptaciones a bajas radiaciones estimados por diferentes parámetros como evolución del Yield, valor de ETR máximo y punto de saturación de luz por fluorescencia.

ADAPTACIONES HÍDRICAS Y ANATÓMICAS RELACIONADAS CON LA DISTRIBUCIÓN DE LÍQUENES EPÍFITOS EN BOSQUES TEMPLADOS DEL SUR DE CHILE

- Las especies del bosque mixto y las especies del bosque de araucaria mostraron una tendencia a separarse por los parámetros DM, STM, WHC y tiempo de deshidratación tras saturación de las especies.
- Respecto al grosor del talo, dos de tres especies de *A. araucana* son significativamente más gruesas que las especies del bosque mixto, indicando que este puede ser un parámetro adaptativo importante al ambiente.

COMPARACIÓN ECOFISIOLÓGICA DE MACROLÍQUENES ADAPTADOS A DIFERENTES AMBIENTES FORESTALES EN CHILE

- La respuesta fotosintética frente al contenido hídrico y frente a la luz en las especies del bosque mixto fue más diversa que entre las especies del bosque de araucaria que fue más compacta.
- El mayor tiempo en óptimo de fotosíntesis se presentó en las especies del bosque de araucaria, lo que indica una adaptación a mayor exposición ambiental. Esto se ve apoyado en mayores valores de fotosíntesis neta para estas especies desde el punto de vista cuantitativo.
- *S. ainoae* se diferenció del resto de especies del bosque mixto presentando más del doble del valor de máxima FN, así como un periodo de actividad considerablemente más alto respecto a esta unidad vegetacional, convirtiéndola en la especie más competitiva desde el punto de vista fisiológico.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Antoine, M. E. 2004. An ecophysiological approach to quantifying nitrogen fixation by *Lobaria oregana*. *The Bryologist* 107: 82-87.
- Aguilera-Betti, I., Muñoz, A. A., Stahle, D., Figueroa, G., Duarte, F., González-Reyes, Á., ... & Sauchyn, D. 2017. The First Millennium-Age *Araucaria Araucana* in Patagonia. *Tree-Ring Research*, 73(1), 53-56.
- Aragón, G., Martínez, I., Izquierdo, P., Belinchón, R., & Escudero, A. 2010. Effects of forest management on epiphytic lichen diversity in Mediterranean forests. *Applied Vegetation Science* 13: 183-194.
- Ardiles, V., Cuvertino, J., & Osorio, F. 2008. Guía de Campo Briófitas de los Bosques Templados Australes de Chile. Una introducción al estudio de los musgos, las hepáticas y los antocerotes que habitan en los bosques de Chile. Ed. Corporación Chilena de la Madera, Concepción.
- Armesto, J., Smith-Ramírez, C., León, P., & Arroyo, M. 1992. Biodiversidad y Conservación del Bosque templado en Chile. En *Ambiente y Desarrollo* 8: 19-24.
- Armesto, J., Villagrán, C., & Donoso, C. 1994. La historia del bosque templado chileno. *Ambiente y Desarrollo* 10: 66-72.
- Armesto, J.J., Villagrán, C. & Kalin Arroyo, M. (Eds.). 1997. Los bosques templados del sur de Chile y Argentina una isla biogeográfica. En: *Ecología de los bosques nativos de Chile* Editorial Universitaria, Santiago, Chile, 470 pp.
- Arroyo M, Cavieres, L., Peñaloza, A., Riveros, R., & Faggi, A. 1997. Relaciones fitogeográficas y patrones regionales de riqueza de especies en la flora del bosque lluvioso templado de Sudamérica. En: Armesto JJ, C Villagrán & MTK Arroyo (eds) *Ecología de los bosques nativos de Chile*: 71-99. Editorial Universitaria, Santiago, Chile.
- Asplund, J., Sandling, A., & Wardle, D.A. 2012. Lichen Specific Thallus Mass and Secondary Compounds Change across a Retrogressive Fire-Driven Chronosequence. *Plos One* 7: 1-7
- Asplund, J., & Wardle, D. A. 2016. How lichens impact on terrestrial community and ecosystem properties. *Biological Reviews* 1-19.
- Atala, C, Alfaro, J.F., Parra, M. J., & Saldaña, A. 2014. Desiccation tolerance in *Dendrologotrichum dendroides* (Brid. ex Hedw.) Broth. from two Chilean populations with contrasting precipitation. *Gayana. Botánica* 71: 10-16.
- Atala, C., Schneider, C., Bravo, G., Quilodrán, M., & Vargas, R. 2015. Anatomical, physiological and chemical differences between populations of *Pseudocyphellaria flavicans* (Hook. f. & Taylor) Vain. from Chile. *Gayana Botanica* 72: 21-26.
- Barkman, J. J. 1958. Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes. Ed. Koninklijke Van Gorcum & Comp. 625 pp. Assen, Netherlands.

- Barnes, J.D., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S., & Davison, A.W. 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls a and b in lichens and higher plants. *Environmental and Experimental Botany* 32: 85-100.
- Barreno Rodríguez, E., & Pérez-Ortega, S. 2003. Líquenes de la reserva natural integral de Muniellos, Asturias. KRK ediciones, Asturias, España.
- Barták, M., Vráblíková, H., & Hájek, J. 2003. Sensitivity of photosystem 2 of Antarctic lichens to high irradiance stress: fluorometric study of fruticose (*Usnea antarctica*) and foliose (*Umbilicariadecussata*) species. *Photosynthetica* 41: 497-504.
- Beckett, R.P., Kranner, I., & Minibayeva, F. V. 2008. Stress physiology and the symbiosis. In: Nash TH III (ed) *Lichen biology*, 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, pp 134–151, viii + 486 pages.
- Belinchón, R., Martínez, I., Otálora, M. A., Aragón, G., Dimas, J., & Escudero, A. 2009. Fragment quality and matrix affect epiphytic performance in a Mediterranean forest landscape. *American Journal of Botany* 96: 1974-1982.
- Benzing, D.H. 1998. Vulnerabilities of tropical forests to climate change: the significance of resident epiphytes. *Climate Change* 39: 519-540.
- Björkman, O. & Demmig-Adams, B. 1994. Regulation of photosynthetic light energy capture, conversion, and dissipation in leaves of higher plants. In: *Ecophysiology of Photosynthesis*, E-D. Schulze, M.M. Caldwell (Eds.), Springer-Verlag, pp. 17–47.
- Büdel, B., & Lange, O. 1994. The role of cortical and epinecral layers in the lichen genus *Peltula*. *Cryptogamic botany* 4: 262-262.
- Büdel, B., & Scheidegger, C. 2008. Thallus morphology and anatomy. In: Nash TH (ed) *Lichen Biology*. Cambridge University Press, New York, pp 40–68.
- Bustamante, R., Serey, I., & Guzmán, G. 1989. Distribución y abundancia de epífitos en bosques de lenga (*Nothofagus pumilio*), isla Navarino, Región de Magallanes y de la Antártica Chilena. *Ser. Cient. INACH* 39:59-67.
- Calatayud, A., Sanz, M. J., Calvo, E., Barreno, E., & del Valle-Tascón, S. 1996. Chlorophyll a fluorescence and chlorophyll content in *Parmelia quercina* thalli from a polluted region of northern Castellón (Spain). *The Lichenologist* 28: 49-65.
- Colesie, C., Green, T.G.A., Haferkamp, I., & Büdel, B. 2014. Habitat stress initiates changes in composition, CO₂ gas exchange and C-allocation as life traits in biological soil crusts. *The ISME journal* 8: 2104-2115
- Campbell, J., & Coxson, D. S. 2001. Canopy microclimate and arboreal lichen loading in subalpine spruce-fir forest. *Canadian Journal of Botany* 79: 537-555.
- Candotto Carniel, F., Zanelli, D., Bertuzzi, S., & Tretiach, M. 2015. Desiccation tolerance and lichenization: a case study with the aeroterrestrial microalga *Trebouxia* sp. (Chlorophyta). *Planta* 242: 1-13.

- Cardinale, M., Puglia, A. M., & Grube, M. 2006. Molecular analysis of lichen-associated bacterial communities. *FEMS Microbiology Ecology*, 57: 484-495.
- CEPAL, 2012. La economía del cambio climático en Chile. Naciones Unidas, Santiago, Chile, 134 p.
- Chazdon, R. L. 1988. Sunflecks and their importance to forest understorey plants. *Advances in ecological research* 18: 1-63.
- CIREN. 2003. Descripciones de Suelos y Materiales y Símbolos. Estudio Agrológico de la X Región. Centro de Información de Recursos Naturales (CIREN), Publicación 123. 412 p.
- Colwell, R. K., Mao, C. X., & Chang, J. (2004). Interpolating, extrapolating, and comparing incidence-based species accumulation curves. *Ecology* 85: 2717-2727.
- CONAF. 2014. Plan de Manejo Parque Nacional Alerce Costero. 189 p.
- Cornelissen, J., & Steege, H. 1989. Distribution and ecology of epiphytic bryophytes and lichens in dry evergreen forest of Guyana. *Journal of Tropical Ecology* 5: 131-150.
- Cornelissen, J. H. C., Callaghan, T. V., Alatalo, J. M., Michelsen, A., Graglia, E., Hartley, A. E., & Henry, G. H. R. 2001. Global change and arctic ecosystems: is lichen decline a function of increases in vascular plant biomass?. *Journal of Ecology* 89: 984-994.
- Cowan, I.R., Lange, O.L., & Green, T.G.A. 1992. Carbon-dioxide exchange in lichens: determination of transport and carboxylation characteristics. *Planta* 187: 282-294.
- Czeczuga, B., & Krukowska, K. 2001. Effect of habitat conditions on phycobionts and the content of photosynthesising pigments in five lichen species. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*. 90: 293-305.
- Oficina de Cambio Climático. 2006. Plan Nacional de Adaptación al Cambio Climático. Oficina Española de Cambio Climático. Torreguill, España.
- Demmig-Adams, B., Máguas, C., Adams, W. W., Meyer, A., Kilian, E., & Lange, O. L. 1990. Effect of high light on the efficiency of photochemical energy conversion in a variety of lichen species with green and blue-green phycobionts. *Planta* 180: 400-409.
- Demmig-Adams, B., & Adams, W. W. 1996. The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant science* 1: 21-26.
- Di Castri, F., & Hajek, E. 1976. Representaciones gráficas de pares climáticas. En: *Bioclimatología de Chile*. Ed. Universidad Católica de Chile: 13-52 pp. Santiago, Chile.
- Díaz, I. A., Sieving, K. E., Pena-Foxon, M. E., Larraín, J., & Armesto, J. J. 2010. Epiphyte diversity and biomass loads of canopy emergent trees in Chilean temperate rain forests: A neglected functional component. *Forest Ecology and Management* 259: 1490-1501.
- Donoso Zegers, C. 2006. Las especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. *Autoecología*. Marisa Cuneo Ediciones, Valdivia.

- Ellis, C. J., & Coppins, B. J. 2006. Contrasting functional traits maintain lichen epiphyte diversity in response to climate and autogenic succession. *Journal of Biogeography* 33: 1643-1656.
- Ellis, C. J. 2012. Lichen epiphyte diversity: a species, community and trait-based review. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 14: 131-152.
- Ellyson, W.J.T., Sillett, S.C., 2003. Epiphyte communities on Sitka spruce in an old-growth redwood forest. *The Bryologist* 106: 197-211.
- Errázuriz, A.M., González, J.I., Hernández, M., Cereceda, P., González, M., & Rioseco, R. 1998. *Manual de Geografía de Chile*. 3a Edición actualizada. Editorial Andrés Bello. Santiago. 443 pp.
- Esseen, P. A., & Renhorn, K. E. 1998. Edge effects on an epiphytic lichen in fragmented forests. *Conservation biology* 12: 1307-1317.
- Esseen, P. A. 2006. Edge influence on the old-growth forest indicator lichen *Alectoria sarmentosa* in natural ecotones. *Journal of Vegetation Science* 17: 185-194
- Esseen, P.A., Olsson, T., Coxson, D., & Gauslaa, Y. 2015. Morphology influence water storage in hair lichens from boreal forest canopies. *Fungal Ecology* 18:26-35.
- Färber, L., Solhaug, K. A., Esseen, P. A., Bilger, W., & Gauslaa, Y. 2014. Sunscreening fungal pigments influence the vertical gradient of pendulous lichens in boreal forest canopies. *Ecology* 95: 1464-1471.
- Flores-Bavestrello, A., Król, M., Ivanov, A. G., Hüner, N. P., García-Plazaola, J. I., Corcuera, L. J., & Bravo, L. A. 2016. Two Hymenophyllaceae species from contrasting natural environments exhibit a homoiochlorophyllous strategy in response to desiccation stress. *Journal of plant physiology* 191: 82-94.
- Fritz, Ö. (2009). Vertical distribution of epiphytic bryophytes and lichens emphasizes the importance of old beeches in conservation. *Biodiversity and Conservation* 8: 289.
- Galloway, D. J. 1992a. Lichens of Laguna San Rafael, Parque Nacional "Laguna San Rafael", southern Chile, indicators of environmental change. *Global Geology and Biogeography Letters* 2: 37-45.
- Galloway, D. J. 1992b. Studies in *Pseudocyphellaria* (lichens) III. The South American species. *Bibliotheca Lichenologica* 46: 1-275. Berlin-Suttgart.
- Galloway, 1994. Studies on the lichen genus *Sticta* (Schreber) Ach.: I. Southern South American species. *The Lichenologist* 26: 223-282.
- Galloway, D. J. 1997. Los líquenes del bosque templado de Chile. En: *Ecología de los bosques nativos de Chile*. Armesto, J. Villagrán, C. & Arroyo, M. Editorial Universitaria: 101-112 pp. Santiago, Chile.

- Garty, J., Tamir, O., Hassid, I., Eshel, A., Cohen, Y., Karnieli, A., & Orlovsky, L. 2001. Photosynthesis, chlorophyll integrity, and spectral reflectance in lichens exposed to air pollution. *Journal of environmental quality* 30: 884-893.
- Gasulla, F. 2009. Insights on desiccation tolerance of the lichen photobiont *Trebouxia* sp. pl. in both thalline and isolated ones (Doctoral dissertation, PhD Thesis).
- Gatica, A., Pereira, I. R. I. S., & Vallejos, O. 2011. Epiphytic lichens: a tool for to study the ecological continuity Mocha Island, Chile. *Gayana Botanica* 68: 226-235.
- Gauslaa, Y., & Solhaug, K. A. 1996. Differences in the susceptibility to light stress between epiphytic lichens of ancient and young boreal forest stands. *Functional Ecology* 10: 344-354.
- Gauslaa, Y., & Solhaug, K.A. 1998. The significance of thallus size for the water economy of the cyanobacterial old forest lichen *Degelia plumbea*. *Oecologia* 116: 76-84.
- Gauslaa, Y., & Solhaug, K. A. 2000. High-light-intensity damage to the foliose lichen *Lobaria pulmonaria* within a natural forest: the applicability of chlorophyll fluorescence methods. *The Lichenologist* 32: 271-289.
- Gauslaa, Y., Ohlson, M., Solhaug, K. A., Bilger, W., & Nybakken, L. 2001. Aspect-dependent high-irradiance damage in two transplanted foliose forest lichens, *Lobaria pulmonaria* and *Parmelia sulcata*. *Canadian Journal of Forest Research* 31: 1639-1649.
- Gauslaa, Y., Palmqvist, K., Solhaug, K. A., Holien, H., Hilmo, O., Nybakken, L., & Ohlson, M. 2007. Growth of epiphytic old forest lichens across climatic and successional gradients. *Canadian Journal of Forest Research* 37: 1832-1845.
- Gauslaa, Y., & Coxson, D. 2011. Interspecific and intraspecific variations in water storage in epiphytic old forest foliose lichens. *Botany* 89: 787-798.
- Gauslaa, Y., & Goward, T. 2012. Relative growth rates of two epiphytic lichens, *Lobaria pulmonaria* and *Hypogymnia occidentalis*, transplanted within and outside of *Populus dripzones*. *Botany* 90: 954-965.
- Gauslaa, Y., 2014. Rain, dew, and humid air as drivers of morphology, function and spatial distribution in epiphytic lichens. *The Lichenologist* 46: 1-16.
- Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 990: 87-92.
- Giordani, P., Brunialti, G., Bacaro, G., & Nascimbene, J. 2012. Functional traits of epiphytic lichens as potential indicators of environmental conditions in forest ecosystems. *Ecological Indicators* 18: 413-420.
- Giordani, P., Incerti, G., Rizzi, G., Rellini, I., Nimis, P.L. & Modenesi, P. 2014. Functional traits of cryptogams in Mediterranean ecosystems are driven by water, light and substrate interactions. *Journal of Vegetation Science* 25: 778-792.

- Godoy, R., Ramírez, C., Figueroa, H., & Hauenstein, E. 1981. Estudios ecosociológicos en pteridófitos de comunidades boscosas valdivianas, Chile. *Bosque* 4: 12-24.
- González-Reyes, Á., & Muñoz, A. A. 2013. Cambios en la precipitación de la ciudad de Valdivia (Chile) durante los últimos 150 años. *Bosque* 34: 200-213.
- Green, T. G. A., Horstmann, J., Bonnett, H., Wilkins, A., & Silvester, W. B. 1980. Nitrogen fixation by members of the Stictaceae (Lichenes) of New Zealand. *New Phytologist* 84: 339-348.
- Green, T. G. A., Snelgar, W. P., & Brown, D. H. 1981. Carbon dioxide exchange in lichens – carbon dioxide exchange through the cyphellate lower cortex of *Sticta latifrons* Rich. *New Phytologist* 88: 421-426.
- Green, T. G. A., Snelgar, W. P., & Wilkins, A. L. 1985. Photosynthesis, water relations and thallus structure of Stictaceae lichens. In *Lichen Physiology and Cell Biology* (D. H. Brown, ed.): 57-75. New York: Plenum Press.
- Green, T. G. A., & Lange, O. L. 1991. Ecophysiological adaptations of the lichen genera *Pseudocyphellaria* and *Sticta* to south temperate rainforests. *The Lichenologist* 23: 267-282.
- Green, T. G. A., Budel, B., Heber, U., Meyer, A., Zellner, H., & Lange, O. L. 1993. Differences in photosynthetic performance between cyanobacterial and green algal components of lichen photosymbiodemes measured in the field. *New phytologist* 125: 723-731.
- Green, T. G. A., Lange, O. L., & Cowan, I. R. 1994. Ecophysiology of lichen photosynthesis: the role of water status and thallus diffusion resistances. *Cryptogamic botany* 4: 166-178.
- Green, T. G. A., Büdel, B., Meyer, A., Zellner, H., & Lange, O. L. 1997. Temperate rainforest lichens in New Zealand: light response of photosynthesis. *New Zealand Journal of Botany* 35: 493-504.
- Green, T. G. A., Schroeter, B., & Sancho, L. G. 2007. Plant life in Antarctica. In F. I. Pugnaire, & F. Valladares (Eds.), *Handbook of Functional Plant Ecology* (pp. 389-433). Marcel Dekker Inc.
- Green, T. G. A., Nash III, T. H., & Lange, O. L. 2008. Physiological ecology of carbon dioxide exchange. *Lichen biology*. Cambridge University Press, Cambridge, 152-181.
- Green, T. G. A., Sancho, L. G., & Pintado, A. 2011. Ecophysiology of desiccation/rehydration cycles in mosses and lichens. In U. Lüttge, E. Beck, & D. Bartels (Eds.), *Plant Desiccation Tolerance*, Ecological Studies Vol 215 (pp. 89-120). Springer.
- Grube, M., & Hawksworth, D.L. 2007. Trouble with lichen: the re-evaluation and re-interpretation of thallus form and fruit body types in the molecular era. *Mycological Research* 111: 1116-1132.
- Grube, M., Cardinale, M., de Castro, J. V., Müller, H., & Berg, G. 2009. Species-specific structural and functional diversity of bacterial communities in lichen symbioses. *The ISME journal* 3: 1105-1115.

- Gunnarsson, B., Hake, M., & Hultengren, S. 2004. A functional relationship between species richness of spiders and lichens in spruce. *Biodiversity and Conservation* 13: 685-693.
- Gustafsson, L., & Eriksson, I. 1995. Factors of importance for the epiphytic vegetation of aspen *Populus tremula* with special emphasis on bark chemistry and soil chemistry. *Journal of applied ecology* 32: 412-424.
- Guzman, G., Quilhot, W., & Galloway, D. J. 1990. Decomposition of species of *Pseudocyphellaria* and *Sticta* in a southern Chilean forest. *The Lichenologist* 22: 325-331.
- Humphrey, J. W., Davey, S., Peace, A. J., Ferris, R., & Harding, K. 2002. Lichens and bryophyte communities of planted and semi-natural forests in Britain: the influence of site type, stand structure and deadwood. *Biological conservation* 107: 165-180.
- Hauck, M., & Meißner, T. 2002. Epiphytic lichen abundance on branches and trunks of *Abies balsamea* on Whiteface Mountain, New York. *The Lichenologist* 34: 443-446.
- Hedenäs, H., & Ericson, L. 2000. Epiphytic macrolichens as conservation indicators: successional sequence in *Populus tremula* stands. *Biological conservation* 93: 43-53.
- Hilmo, O., Gauslaa, Y., Rocha, L., Lindmo, S., & Holien, H. 2013. Vertical gradients in population characteristics of canopy lichens in boreal rainforests of Norway. *Botany* 91: 814-821.
- Honegger, R. 2008. Morphogenesis. In *Lichen biology*. Edited by T. H. Nash, III. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 69-93.
- Humphrey, J. W., Davey, S., Peace, A. J., Ferris, R., & Harding, K. 2002. Lichens and bryophyte communities of planted and semi-natural forests in Britain: the influence of site type, stand structure and deadwood. *Biological conservation* 107: 165-180.
- Jahns, H.M. 1987. New trends in developmental morphology of the thallus. *Biblioteca Lichenologica* 25: 17-33.
- Jensen, M. 2002. Measurement of chlorophyll fluorescence in lichens. In *Protocols in Lichenology. Culturing, Biochemistry, Ecophysiology and Use in Biomonitoring*. I. Kranner, R. P. Beckett, A. K. Varma, eds., pp. 135-151. Springer, Berlin.
- Jüriado, I., Paal, J., & Liira, J. 2003. Epiphytic and epixylic lichen species diversity in Estonian natural forests. *Biodiversity and Conservation* 12: 1587-1607.
- Kappen, L. 2000. Some aspects of the great success of lichens in Antarctica. *Antarctic Science* 12: 314-324.
- Kappen, L., & Valladares, F. 2007. Opportunistic growth and desiccation tolerance: the ecological success of poikilohydrous autotrophs. En: FI Pugnaire & F Valladares (eds) *Functional Plant Ecology*, segunda edición, CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA, pp 7-67.
- Kappen, L., Lange, O. L., Buschbom, U., Schulze, E. D., & Evenari, M. 1979. Ecophysiological Investigations on Lichens of the Negev Desert: VI. Annual Course of the Photosynthetic Production of *Ramalina macifarmis* (Del.) Bory1) 1) Dedicated to

- Professor Otto Stocker (WS. eh) on the occasion of his 90th birthday. *Flora* 168: 85-108.
- Kappen, L. 1983. Ecology and Physiology of the Antarctic Lichen *Usnea sulphurea* (Koenig) Th. Fries. *Polar Biology* 1: 249-255.
- Kappen, L., Schroeter, B., Green, T. G. A., & Seppelt, R. D. 1998. Chlorophyll *a* fluorescence and CO₂ exchange of *Umbilicaria aprina* under extreme light stress in the cold. *Oecologia* 113: 325-331.
- Kermit, T., & Gauslaa, Y. 2001. The vertical gradient of bark pH of twigs and macrolichens in a *Picea abies* canopy not affected by acid rain. *The Lichenologist* 33: 353-359.
- Kershaw, K.A. 1985. *Physiological Ecology of Lichens*. Cambridge University Press, Cambridge. 293 pp.
- Kivistö, L., & Kuusinen, M. 2000. Edge effects on the epiphytic lichen flora of *Picea abies* in middle boreal Finland. *The Lichenologist* 32: 387-398.
- Knops, J. M., Nash, T. H., & Schlesinger, W. H. 1996. The influence of epiphytic lichens on the nutrient cycling of an oak woodland. *Ecological Monographs* 66: 159-179.
- Komposch, H., Hafellner, J., 2000. Diversity and vertical distribution of lichens in a Venezuelan tropical lowland rain forest. *Selbyana* 21: 11-24.
- Kranner, I., Zorn, M., Turk, B., Wornik, S., Beckett, R. P., & Batič, F. 2003. Biochemical traits of lichens differing in relative desiccation tolerance. *New Phytologist* 160: 167-176.
- Kranner, I., Beckett, R., Hochman, A., & Nash III, T. H. 2008. Desiccation-tolerance in lichens: a review. *The Bryologist* 111: 576-593.
- Kuusinen, M., & Siitonen, J. 1998. Epiphytic lichen diversity in old-growth and managed *Picea abies* stands in southern Finland. *Journal of Vegetation Science* 9: 283-292.
- Lakatos, M., Rascher, U., & Büdel, B. 2006. Functional characteristics of corticolous lichens in the understory of a tropical lowland rain forest. *New Phytologist* 172: 679-695.
- Lakatos, M. 2011. Lichens and bryophytes: habitats and species. In *Plant desiccation tolerance*. pp. 65-87. Springer Berlin Heidelberg.
- Lange, O. L. 1969. Experimentell-okologische Untersuchungen an Flechten der Negev-Wüste. I. CO₂-Gaswechsel von *Ramalina maciformis* (Del.) Bory unter kontrollierten Bedingungen im Laboratorium. *Flora Abt B Morphol and Geobot.*
- Lange, O. L., Büdel, B., Heber, U., Meyer, A., Zellner, H. & Green, T. G. A. 1993a. Temperate rainforest lichens in New Zealand: high thallus water content can severely limit photosynthetic CO₂ exchange. *Oecologia* 95: 303-313.
- Lange, O. L., Büdel, B., Meyer, A., & Kilian, E. 1993b. Further evidence that activation of net photosynthesis by dry cyanobacterial lichens requires liquid water. *The Lichenologist* 25: 175-189.

- Lange, O. L., Meyer, A., Zellner, H., & Heber, U. 1994. Photosynthesis and water relations of lichen soil crusts: field measurements in the coastal fog zone of the Namib Desert. *Functional Ecology* 8: 253-264.
- Lange, O.L., Reichenberger, H., & Meyer., A. 1995. Highthallus water content and photosynthetic CO₂ exchange of lichens. Laboratory experiments with soil crust species from local xerothermic steppe formations in Franconia, Germany. En F Daniels, M Schulz & J Peine (eds) *Flechten Follmann: Contributions to lichenology in honour of Gerhard Follmann*. Geobotanical and Phytotaxonomical Study Group, Universitat Koln, pp 139-153.
- Lange, O. L., Büdel, B., Meyer, A., Zellner, H., & Zotz, G. 2004. Lichen carbon gain under tropical conditions: water relations and CO₂ exchange of Lobariaceae species of a lower montane rainforest in Panama. *The Lichenologist* 36: 329-342.
- Lange, O. L., & Green, T. A. 2005. Lichens show that fungi can acclimate their respiration to seasonal changes in temperature. *Oecologia* 142: 11-19.
- Lange, O. L., Green, T. G. A., & Heber, U. 2001. Hydration-dependent photosynthetic production of lichens: what do laboratory studies tell us about field performance?. *Journal of Experimental Botany* 52: 2033-2042
- Lange, O.L., & Green, T.G.A. 2006. Nocturnal respiration of lichens in their natural habitat is not affected by preceding diurnal net photosynthesis. *Oecologia* 148: 396-404.
- Lange, O.L., & Green, T.G.A. 1996. High thallus water content severely limits photosynthetic carbon gain of central European epilithic lichens under natural conditions. *Oecologia* 108: 13-20.
- Lange, O.L., & Kilian, E. 1985. Reaktivierung der Photosynthese trockener Flechten durch Wasserdampfaufnahme aus dem Luftraum: Artspezifisch unterschiedliches Verhalten. *Flora* 176: 7-23.
- Lange, O.L., Green, T.G.A., & Ziegler, H. 1988. Water status related photosynthesis and carbon isotope discrimination in species of the lichen genus *Pseudocyphellaria* with green or blue-green photobionts and in photosymbiodemes. *Oecologia* 75: 494-501.
- Lange, O.L., Kilian, E., & Ziegler, H. 1986. Water vapor uptake and photosynthesis in lichens: performance differences in species with green and blue-green algae as phycobionts. *Oecologia* 71: 104-110.
- Lara, A & Villalba, R. 1993. A 3620-year temperature record from Fitzroya cupressoides tree rings in southern South America. *Science* 260: 1104-1106.
- Lara, A., Donoso, C., Aravena, J. C., Armesto, J. J., & Villagrán, C. (1996). La conservación del bosque nativo en Chile: Problemas y desafíos. En: *Ecología de los bosques nativos de Chile* Editorial Universitaria, Santiago, Chile, pp. 335-362.
- Larraín, J. 2005. Musgos de la Cordillera de la Costa de Valdivia, Osorno y Llanquihue: consideraciones ecológicas y lista de especies. En *Historia, Biodiversidad y Ecología de*

- los bosques de la Cordillera de la Costa de Chile. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. pp. 162-183.
- Larsson, P., Solhaug, K.A., & Gauslaa, Y. 2012. Seasonal partitioning of growth into biomass and area expansion in a cephalolichen and a cyanolichen of the old forest genus *Lobaria*. *New Phytologist* 194: 991-1000.
- Leakey, A. D. B., Scholes, J. D., & Press, M. C. 2005. Physiological and ecological significance of sunflecks for dipterocarp seedlings. *Journal of Experimental Botany* 56: 469-482.
- Legaz, M. E., Vicente, C., Ascaso, C., Pereira, E. C., & Xavier Filho, L. 1986. Pigment analysis of sun and shade populations of *Cladonia verticillaris*. *Biochemical systematics and ecology* 14: 575-582.
- Leisner, J. M., Bilger, W., Czygan, F. C., & Lange, O. L. 1994. Light exposure and the composition of lipophilous carotenoids in cyanobacterial lichens. *Journal of plant physiology* 143: 514-519.
- León, C. A., Oliván-Martínez, G., Larraín, J., & Vargas, R. 2016. Patterns of bryophyte and lichen diversity in bogs and *Tepualia stipularis* forests of Northern Patagonia (Chile): evidence of a novel ecosystem in southern South America. *Botanical Sciences* 94: 441-453.
- Li, S., Liu, W.Y., Li D.W., Song L., Shi X.M., & Lu H.Z. 2015. Species richness and vertical stratification of epiphytic lichens in subtropical primary and secondary forests in southwest China. *Fungal Ecology* 17: 30-40.
- Li, S., Liu, W.Y., Li, D.W., 2013. Bole epiphytic lichens as potential indicators of environmental change in subtropical forest ecosystems in southwest China. *Ecological Indicators* 29: 93-104.
- Luebert, F., & Plischoff, P. 2006. Sinopsis bioclimática y vegetal de Chile. Editorial Universitaria. Santiago de Chile: 316 p.
- Lücking, R., Wirth, V., Ferraro, L. I., & Cáceres, M. E. S. 2003. Follicolous lichens from Valdivian temperate rain forest of Chile and Argentina: evidence of an austral element, with the description of seven new taxa. *Global Ecology and Biogeography* 12: 21-36.
- Lüttge, U. 2013. Desiccation tolerance of the epilithic lichen *Lecanora muralis* (Schreb.) Rabenh. in the temperate climate. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 208: 233-237.
- MacFarlane, J. D., & Kershaw, K. A. 1980. Physiological-environmental interactions in lichens. *New Phytologist* 84: 669-685.
- MacKenzie, T.B.D., & Campbell, D.A. 2001. Evidence for wavelength-dependent light screening of cyanobionts and phycobionts in *Lobaria* during dehydration. *Symbiosis* 30: 57-70.
- Marini, L., Nascimbene, J., & Nimis, P. L. 2011. Largescale patterns of epiphytic lichen species richness: photobiont-dependent response to climate and forest structure. *Science of the Total Environment* 409: 4381-4386.

- Marmor, L., Tõrra, T., & Randlane, T. 2010. The vertical gradient of bark pH and epiphytic macrolichen biota in relation to alkaline air pollution. *Ecological Indicators* 10: 1137-1143.
- Marticorena, A. 2010. Plantas trepadoras, epífitas y parásitas nativas de Chile. CORMA. Concepción, Chile, 291 p.
- Martínez, I. 1999. Taxonomía del género *Peltigera* willd. (Ascomycetes liquenizados) en la península ibérica y estudio de sus hongos liquenícolas. *Ruizia* 15: 1-200.
- Martinez-Ferri, E., Balaguer, L., Valladares, F., Chico, J. M., & Manrique, E. 2000. Energy dissipation in drought-avoiding and drought-tolerant tree species at midday during the Mediterranean summer. *Tree Physiology* 20: 131-138.
- Maxwell, K., & Johnson, G.N. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- McCune, B. 2000. Lichen communities as indicators of forest health. *The Bryologist* 103: 353-356.
- McCune, B. 1993. Gradients in epiphyte biomass in three *Pseudotsuga*-*Tsuga* forests of different ages in western Oregon and Washington. *The Bryologist* 96: 405-411.
- McCune, B., Amsberry, K.A., Camacho, F.J., Clery, S., Cole, C., Emerson, C., Felder, G., French, P., Greene, D., Harris, R., Hutten, M., Larson, B., Lesko, M., Majors, S., Markwell, T., Parker, G.G., Pendergrass, K., Peterson, E.B., Peterson, E.T., Platt, J., Proctor, J., Rambo, T., Rosso, A., Shaw, D., Turner, R., Widmer, M., 1997. Vertical profile of epiphytes in a Pacific Northwest old-growth forest. *Northwest Science* 7:145-152.
- McMullin, R. T., Duinker, P. N., Richardson, D. H., Cameron, R. P., Hamilton, D. C., & Newmaster, S. G. 2010. Relationships between the structural complexity and lichen community in coniferous forests of southwestern Nova Scotia. *Forest ecology and Management* 260: 744-749.
- Meinzer, F.C., & Goldstein, G., 1996. Scaling up from leaves to whole plants and Canopies for photosynthetic gas exchange. In: Mulkey, S.S., Chazdon, R.L., Smith, A.P. (Eds.), *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. Chapman & Hall, New York, pp. 114-138.
- Merinero, S., Hilmo, O., & Gauslaa, Y. 2014. Size is a main driver for hydration traits in cyano- and cephalolichens of boreal rainforest canopies. *Fungal Ecology* 7: 59-66.
- Merinero, S., Martínez, I., Rubio-Salcedo, M., & Gauslaa, Y. 2015. Epiphytic lichen growth in Mediterranean forests: effects of proximity to the ground and reproductive stage. *Basic and Applied Ecology* 16: 220-230.
- Mittermeier, R. A., Turner, W. R., Larsen, F. W., Brooks, T. M., & Gascon, C. 2011. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. p. 3-22. Springer Berlin Heidelberg.

- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Nash, TH III. 2008. Introduction. En *Lichen biology*. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, p 1-8.
- Neira, E., Verscheure, H., & Revenga, C. 2002. Chile's frontier forests: conserving a global treasure. Global Forest Watch, World Resources Institute. 36 p.
- Normann, F., Weigelt, P., Gehrig-Downie, C., Gradstein, S. R., Sipman, H. J., Obregon, A., & Bendix, J. 2010. Diversity and vertical distribution of epiphytic macrolichens in lowland rain forest and lowland cloud forest of French Guiana. *Ecological Indicators* 10: 1111-1118.
- Oberdorfer E. 1960. Pflanzensoziologische Studien in Chile. In TÜXEN R, ed. *Flora et Vegetatio Mundi*, Weinheim, Alemania. Cramer. Vol. 2, p. 1-208.
- Oficina de Cambio Climático, 2014. Plan nacional de adaptación al cambio climático. Ministerio del Medio Ambiente. Santiago, Chile. 54 p.
- Oyarzún, C., Godoy, R., Staelens, J., Donoso, P.J & Verhoest, N. 2011. Seasonal and annual forest throughflow and stemflow in the Andean temperate rainforests. *Hydrological Processes* 25: 623-633.
- Oyarzun, C., Godoy, R., & Sepúlveda, A. 1998. Water and nutrients fluxes in a cool temperate rainforest at the Cordillera de la Costa in southern Chile. *Hydrological Processes* 12: 1067-1077.
- Paillet, Y., Bergès, L., Hjältén, J., Ódor, P., Avon, C., Bernhardt-Römermann, M. A. R. K. U. S., & Kanka, R. 2010. Biodiversity differences between managed and unmanaged forests: meta-analysis of species richness in Europe. *Conservation biology* 24: 101-112.
- Palmqvist, K. 2000. Carbon economy of lichens. *New Phytologist* 148: 11-36.
- Paoli, L., Pisani, T., Munzi, S., Gaggi, C., & Loppi, S. 2010. Influence of sun irradiance and water availability on lichen photosynthetic pigments during a Mediterranean summer. *Biologia* 65: 776-783.
- Pardow, A., Hartard, B., & Lakatos, M. 2010. Morphological, photosynthetic and water relations traits underpin the contrasting success of two tropical lichen groups at the interior and edge of forest fragments. *AoB Plants* plq 004.
- Parmasto, E. 1978. The genus *Dictyonema* ("Thelephorolichenes"). *Nova Hedwigia* 29: 99-144.
- Parra, M. J., Acuna, K., Corcuera, L. J., & Saldaña, A. 2009. Vertical distribution of Hymenophyllaceae species among host tree microhabitats in a temperate rain forest in Southern Chile. *Journal of Vegetation Science* 20: 588-595.
- Parra, M. J., Acuña, K. I., Sierra-Almeida, A., Sanfuentes, C., Saldaña, A., Corcuera, L. J., & Bravo, L. A. 2015. Photosynthetic light responses may explain vertical distribution of

- Hymenophyllaceae species in a temperate rainforest of Southern Chile. Plos one 10: 1-19.
- Péli, E. R., Lei, N., Pócs, T., Laufer, Z., Porembski, S., & Tuba, Z. 2011. Ecophysiological responses of desiccation-tolerant cryptobiotic crusts. Central European Journal of Biology 6: 838-849.
- Pereira, I. 2007. Micobiota liquenizada del Parque Katalapi, X Región, Chile. Gayana Botánica 64: 192-200.
- Pereira, I., & San Martín, J. 1998. Flora liquénica cortícola en un bosque caducifolio de *Nothofagus alessandri*, de Chile central. Cryptogamie Bryologie Lichenologie 19: 59-72.
- Pereira, I., San Martín, J., & Roux, C. 1999. Patrón florístico de líquenes epífitos de *Nothofagus glauca* en un bosque costero de Chile central. Gayana Botánica 56: 69-76.
- Pereira, I., Mueller, F., & Moya, M. 2014. Influence of *Nothofagus* bark pH on the lichen and bryophytes richness, Central Chile. Gayana Botanica 71: 120-130.
- Perkins, R. G., Mouget, J. L., Lefebvre, S., & Lavaud, J. 2006. Light response curve methodology and possible implications in the application of chlorophyll fluorescence to benthic diatoms. Marine Biology 149: 703-712.
- Pettersson, R. B., Ball, J. P., Renhorn, K.-E., Esseen, P. A., & Sjöberg, K. 1995. Invertebrate communities in boreal forest canopies as influenced by forestry and lichens with implications for passerine birds. Biological Conservation 74: 57-63.
- Pharo, E. J., Beattie, A. J., & Binns, D. 1999. Vascular Plant Diversity as a Surrogate for Bryophyte and Lichen Diversity. Conservation Biology 13: 282-292.
- Pintado, A., & Sancho, L.G. 2002. Ecological significance of net photosynthesis activation by water vapour uptake in *Ramalina capitata* from rain protected habitats in central Spain. The Lichenologist 34: 403-413.
- Pintado, A., Sancho, L.G., Green, T.G.A., Blanquer, J.M., & Lázaro, R. 2005. Functional ecology of the biological soil crust in semiarid SE Spain: sun and shade populations of *Diploschistes diacapsis* (Ach.) Lumbsch. The Lichenologist 37: 425-432.
- Pintado, A., Valladares, F., & Sancho, L.G. 1997. Exploring phenotypic plasticity in the lichen *Ramalina capitata*: morphology, water relations and chlorophyll content in North and South-facing populations. Annals of Botany 80: 345- 353.
- Pisani, T., Paoli, L., Gaggi, C., Pirintsos, S. A., & Loppi, S. 2007. Effects of high temperature on epiphytic lichens: Issues for consideration in a changing climate scenario. Plant Biosystems 141: 164-169.
- Pollmann, W. 2003. Stand structure and dendroecology of an old-growth *Nothofagus* forest in Conguillio National Park, south Chile. Forest Ecology and Management 176: 87-103.
- Quilhot, W., Cuellar, M., Díaz, R., Riquelme, F., & Rubio, C. 2010. Estudio preliminar de la flora liquénica de Isla Mocha, sur de Chile. Gayana Botánica 67: 206-212.

- Quilhot, W., Cuellar, M., Díaz, R., Riquelme, F., & Rubio, C. 2012. Lichens of Aisen, Southern Chile. *Gayana Botanica* 69: 57-87.
- Raggio, J., Pintado, A., Ascaso, C., De La Torre, R., De Los Ríos, A., Wierzchos, J., Horneck, G., & Sancho L.G. 2011. Whole Lichen Thalli Survive Exposure to Space Conditions: Results of Lithopanspermia Experiment with *Aspicilia fruticulosa*. *Astrobiology* 11: 281-292.
- Raggio, J., Pintado, A., Vivas, M., Sancho, L. G., Büdel, B., Colesie, C., ... & Green, T. G. A. 2014. Continuous chlorophyll fluorescence, gas exchange and microclimate monitoring in a natural soil crust habitat in Tabernas badlands, Almería, Spain: progressing towards a model to understand productivity. *Biodiversity and conservation* 23: 1809-1826.
- Rambo, T. R. 2010. Structure and composition of corticolous epiphyte communities in a Sierra Nevada old-growth mixed-conifer forest. *The Bryologist* 113: 55-71.
- Ramírez, C & San Martín C. 2005. Asociaciones vegetales de la cordillera de la costa de la Región de Los Lagos. In *Historia, biodiversidad y ecología de los bosques costeros de Chile* (eds. C. Smith-Ramírez, J. Armesto & C. Valdovinos). Editorial Universitaria. Santiago de Chile, pp. 206-224.
- Ranius, T., Johansson, P., Berg, N. and Niklasson, M. 2008. The influence of tree age and microhabitat quality on the occurrence of crustose lichens associated with old oaks. *Journal of Vegetation Science* 19: 653-662.
- Rascher, U., Liebig, M., & Lüttge, U. 2000. Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. *Plant, Cell & Environment* 23: 1397-1405.
- Redon, J., & Lange, O. L. 1983. Epiphytische Flechten im Bereich einer chilenischen Nebeloase "(Fray Jorge) I. Vegetationskundliche Gliederung und Standortsbedingungen. *Flora* 174: 213-243.
- Redon, J., Arellano, L., & Riveros, M. 1979. Los líquenes de Cordillera Pelada. I: Estudio preliminar. *Medio Ambiente* 4: 71-79.
- Reiter, R., Höftberger, M., Green, T.G.A., & Türk R. 2008. Photosynthesis of lichens from lichendominated communities in the alpine/nival belt of the Alps-II: Laboratory and field measurements of CO₂ exchange and water relations. *Flora* 203: 34-46.
- Rodríguez, R., Alarcón, D., & Espejo, J. 2009. Helechos nativos del centro y sur de Chile. Corporación Chilena de la Madera. Concepción, Chile, 212 p.
- Ronen, R. & Galun, M. 1984. Pigment extraction from lichens with dimethylsulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. *Environmental and Experimental Botany* 24: 239-245.
- Root H. T, McGee G. G, Norton R. A. 2007. Arboreal mite communities on epiphytic lichens of the Adirondack Mountains of New York. *Northeastern Naturalist* 14: 425-438.

- Rosabal, D., Burgaz, A., Altamirano, A., & Aragón, G. 2012. Differences in diversity of corticolous lichens between interior and edge of the Monte Barranca semi-deciduous forest, Santiago de Cuba. *The Bryologist* 115: 333-340.
- Rubio, C., Saavedra, M., Cuéllar, M., Díaz, R., & Quilhot, W. 2013. Epiphytic lichens of Conguillío National Park, Southern Chile. *Gayana Botánica* 70: 66-81.
- Sancho L.G., & Kappen, L. 1989. Photosynthesis and water relations and the role of anatomy in Umbilicariaceae (lichenes) from Central Spain. *Oecologia*, 81: 473-480.
- Sancho, L.G., Schroeter, B., & Valladares, F. 1997. Photosynthetic performance of two closely related *Umbilicaria* species in Central Spain. Temperature as a key factor. *The Lichenologist* 29: 67-82.
- Sancho, L.G., de la Torre, R., Horneck, G., Ascaso, C., de los Ríos, A., Pintado, A., Wierzechos, J., Schuster, M. 2007. Lichens survive in space: results from the 2005 LICHENS experiment. *Astrobiology* 7: 443-454.
- Scheidegger, C., Frey, B., & Schroeter, B. 1997. Cellular water uptake, translocation and PSII activation during rehydration of desiccated *Lobaria pulmonaria* and *Nephroma bellum*. *Bibliotheca Lichenologica* 67: 105-117.
- Schneider, P. H., & Schmitt, J. L. 2011. Composition, community structure and vertical distribution of epiphytic ferns on *Alsophila setosa* Kaulf., in a Semideciduous Seasonal Forest, Morro Reuter, RS, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 25: 557-565.
- Seyd, E. L., & Seaward, M. R. D. 1984. The association of oribatid mites with lichens. *Zoological Journal of the Linnean Society* 80: 369-420.
- Sillett, S. C., & McCune, B. (1998). Survival and growth of cyanolichen transplants in Douglas-fir forest canopies. *The Bryologist* 101: 20-31.
- Sillett, S. C., & Antoine, M. E. 2004. Lichens and bryophytes in forest canopies. *Forest Canopies*. Elsevier Academic Press, MA, 151-174.
- Sillett, S. C., & Rambo, T. R. 2000. Vertical distribution of dominant epiphytes in Douglas-fir forests of the central Oregon Cascades. *Northwest Sci.* 74, 44-49.
- Snäll, T., Hagström, A., Rudolphi, J., & Rydin, H. 2004. Distribution pattern of the epiphyte *Neckera pennata* on three spatial scales—importance of past landscape structure, connectivity and local conditions. *Ecography* 27: 757-766.
- Snelgar, W. P., & Green, T. G. A. 1980. Carbon dioxide exchange in lichens: low carbon dioxide compensation levels and lack of apparent photorespiratory activity in some lichens. *The Bryologist* 83: 505-507.
- Snelgar, W. P., Green, T. G. A., & Beltz, C. K. 1981. Carbon dioxide exchange in lichens: Estimation of internal thallus CO₂ transport resistances. *Physiologia Plantarum* 52: 417-422.

- Snelgar, W.P., & Green, T.G.A. 1981. Ecologically-linked variation in morphology, acetylene reduction, and water relation in *Pseudocyphellaria dissimilis*. *New Phytologist* 87: 403-411.
- Smith-Ramírez, C., Armesto, J., & Valdovinos, C. 2005. Historia, biodiversidad y ecología de los bosques costeros de Chile. Editorial Universitaria, Santiago, Chile. 708 pág.
- Solhaug, K. A., Gauslaa, Y., Nybakken, L., & Bilger, W. 2003. UV-induction of sun-screening pigments in lichens. *New Phytologist*, 158: 91-100.
- Spribille, T., Tuovinen, V., Resl, P., Vanderpool, D., Wolinski, H., Aime, M. C., ... & Mayrhofer, H. 2016. Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. *Science* 353: 488-492.
- Stanton, D. E., Huallpa Chávez, J., Villegas, L., Villasante, F., Armesto, J., Hedin, L. O., & Horn, H. 2014. Epiphytes improve host plant water use by microenvironment modification. *Functional ecology* 28:1274-1283.
- Taiz, L., & Zeiger, E. 2006. Fisiología vegetal. Castellón de la Plana, Universitat Jaume I. España.
- Tambussi, E. A. 2005. Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: algunos casos de estudio. Memoria presentada por para optar al grado de Doctor en Biología Universitat de Barcelona. 203 p.
- Tretiach, M. & Brown, D.H. 1995. Morphological and physiological differences between epilithic and epiphytic populations of the lichen *Parmelia pastillifera*. *Annals of Botany* 75: 627-632.
- Valladares, F., Sancho, L.G., & Ascaso, C. 1998. Water storage in the lichen family Umbilicariaceae. *Botanica Acta* 111: 99-107.
- Valladares, F., Vilagrosa, A., Peñuelas, J., Ogaya, R., Camarero, J. J., Corcuera, L., Sisó, S., & Gil-Pelegrín, E. 2004. Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Organismo Autónomo de Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Valladares, F. 2006. La disponibilidad de luz bajo el dosel de los bosques y matorrales ibéricos estimada mediante fotografía hemisférica. *Ecología* 20: 11-30.
- Van Stan, J. T., & Pypker, T. G. 2015. A review and evaluation of forest canopy epiphyte roles in the partitioning and chemical alteration of precipitation. *Science of the Total Environment* 536: 813-824.
- Veblen, T.T., Donoso, C., Kitzberger, T., & Robertus, A. J. 1996. Ecology of southern Chilean and Argentinean *Nothofagus* forests. En: T.T. Veblen, R Hill & J Read (eds) *The Ecology and Biogeography of Nothofagus forests*: 293-353. Yale University Press.
- Villagra, 2006. Estudio ecológico de la flora líquénica epífita corticícola presente en *Araucaria araucana*, *Nothofagus antarctica* y *Nothofagus dombeyi*, Parque Nacional Conguillío, IX Región, Chile. Tesis de grado de Licenciatura en Ciencias Biológicas. Universidad Austral de Chile. 105 p.

- Villagra, J., Montenegro, D., San Martín, C., Ramírez, C., & Álvares, I. 2009. Estudio de la flora líquénica de las turberas de la comuna de Tortel (Región de Aisén), Patagonia Chilena. *Anales Instituto Patagonia* 37:53-62.
- Villagrán C., Hässel de Menéndez G. and Barrera E. 2005. Hepáticas y Antocerotes del Archipiélago de Chiloé. Una introducción a la flora briofítica de los ecosistemas templados lluviosos del sur de Chile. Corporación de Amigos del Museo Nacional de Historia Natural, Santiago.
- Villagrán, C. and Hinojosa, F. 1997. Historia de los bosques de Sudamérica II. Fitogeografía. *Revista Chilena de Historia Natural* 70: 241-267.
- Villagrán, C., Hinojosa, L. F., Llorente-Bousquets, J., & Morrone, J. J. 2005. Esquema biogeográfico de Chile. Regionalización Biogeográfica en Iberoamérica y Tópicos Afines: Primeras Jornadas Biogeográficas de la Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática. Las prensas de Ciencias, UNAM, Mexico City, 551-557.
- Vivas M. 2013. Adaptación y tolerancia de los líquenes a condiciones adversas a través de gradientes ambientales. Tesis de doctorado Universidad Complutense ed Madrid.
- Vivas, M., Pérez-Ortega, S., Pintado, A., & Sancho, L. 2017. Fv/Fm acclimation to the Mediterranean summer drought in two sympatric *Lasallia* species from the Iberian mountains. *The Lichenologist* 49: 157-165.
- Way, D. A., & Pearcy, R. W. 2012. Sunflecks in trees and forests: from photosynthetic physiology to global change biology. *Tree Physiology* 32: 1066-1081.
- Wedin, M. 1995. The lichen family Sphaerophoraceae (Caliciales, Ascomycotina) in temperate areas of the Southern Hemisphere. *Symbolae Botanicae Upsalienses* 31: 1-102.
- Wellburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144: 307-313.
- White, F.J., & James, P.W. 1988. Studies on the Genus *Nephroma* II. The Southern Temperate Species. *The Lichenologist* 20: 103-166.
- Wilcox, K. 1996. Chile's Native Forests: A Conservation Legacy. Ancient Forests International, Redway, California, USA. 148 pp.
- Williams, C.B., & Sillett, S.C., 2007. Epiphyte communities on redwood (*Sequoia sempervirens*) in northwestern California. *The Bryologist* 110: 420-452.
- Woda, C., Huber, A., & Dohrenbusch, A. 2006. Vegetación epífita y captación de neblina en bosques siempreverdes en la Cordillera Pelada, sur de Chile. *Bosque* 27: 231-240.
- Will-Wolf, S., Esseen, P. A., & Neitlich, P. (2002). Monitoring biodiversity and ecosystem function: forests. In *Monitoring with lichens—Monitoring lichens* (p. 203-222). Springer Netherlands.

- Zotz, B. Büdel, A. Meyer, H. Zellner and O. L. Lange. 1998. In situ studies of water relations and CO₂ exchange of the tropical macrolichen, *Sticta tomentosa*. New Phytologist 139: 525-535.

ANEXO I

DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE LAS ESPECIES

Ambos grupos presentan talos heterómeros con fotobionte verde y/o cianobacterias (Galloway, 1992). Los géneros *Pseudocyphellaria* y *Sticta* se caracteriza por la presencia de poros denominados pseudocifelas (corteza inferior y/o superior) y cifelas (inferior), respectivamente (Galloway 1992; 1994). Ambos tipos de poros se ha demostrado que facilitan en el intercambio de CO₂ (Green *et al.*, 1981). El género *Nephroma* se caracteriza por presentar apotecios en forma de riñón, los cuales se producen en la superficie inferior de los lóbulos del talo y generalmente se doblan hacia arriba (White & James, 1988). Todas las especies son epífitas de árboles y arbustos y se pueden encontrar en una variedad de hábitats con medianas y altas intensidades de luz y elevada humedad.

Pseudocyphellaria berberina (G. Forst.) D.J. Galloway & P. James.

Talos heterómeros de 192-437 µm de grosor con córtex superior paraclectenquimático de 20,95-52,25 µm de ancho. Capas celulares incoloras pero en muchas ocasiones una pigmentación marrón claro en la zona más expuesta a la superficie. Lumen irregular de color marrón rojizo. Fotobionte verde. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células globosas de color verde brillante, regularmente inferior que el córtex superior, aproximadamente de 14,49-48,50 µm de ancho. Capa medular de tamaño variado 107,09-310,014 µm, amarilla, formada por hifas aracnoidales flojamente entrelazadas y con incrustaciones cristalinas amarillas. Córtex inferior 19,20-44,79 µm de ancho paraplectenquimático compuesto por unas pocas capas celulares, semejante al córtex superior incoloras con células ± isodiamétrica. Presentó tomento con hifas incoloras.

Pseudocyphellaria divulsa (Taylor) Imshaug.

Talos heterómeros de 113-245 µm de grosor con córtex superior paraplectenquimático de 14,97-43,17 µm de ancho. Células regularmente isodiamétricas de 5-9 µm de diámetro. Capas celulares amarillo claro pero en muchas ocasiones una pigmentación marrón claro en la zona más expuesta a la superficie. Lumen irregular de color marrón claro. Fotobionte verde. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células globosas de color verde brillante, regularmente más amplia que el córtex superior, aproximadamente de 20,30-45,53 µm de ancho. Capa medular blanca de tamaño variado 40,09-149,35 µm, formada por hifas aracnoidales entretrejadas entre sí. Córtex inferior 12,47-44,74 µm de ancho paraplectenquimático compuesto por unas pocas capas celulares,

semejante al córtex superior coloreadas de marrón rojizo. Presentó tomento con hifas marrón claro.

Pseudocyphellaria nitida (Taylor) Malme.

Talos heterómeros de 215-450 μm de grosor con córtex superior paraplectenquimático de 33,60-74,54 μm de ancho. Células regularmente isodiamétricas de 3-8 μm de diámetro. Capas celulares incoloras pero en muchas ocasiones una fina pigmentación marrón claro en la zona más expuesta a la superficie. Lumen irregular de blanco. Fotobionte verde. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células globosas de color verde brillante, regularmente inferior que el córtex superior, aproximadamente de 24,69-56,24 μm de ancho. Capa medular blanca de tamaño variado 73,88-287,03 μm , formada por hifas aracnoidales entrelazadas. Córtex inferior 25,20-66,48 μm de ancho paraplectenquimático compuesto por varias capas celulares, semejante al córtex superior con células incoloras con células \pm isodiamétrica de 6-7 μm de diámetro. Presentó tomento con hifas incoloras.

Sticta ainoae D. J. Galloway & J. Pickering.

Talos heterómeros de 167-425 μm de grosor con córtex superior paraplectenquimático de 17,47-67,09 μm de ancho. Capas celulares incoloras pero en muchas ocasiones una fina pigmentación marrón claro en la zona más expuesta a la superficie. Lumen irregular de blanco. Fotobionte verde. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células globosas de color verde brillante, regularmente más amplia que el córtex superior, aproximadamente de 18,22-76,22 μm de ancho. Capa medular blanca de tamaño variado 80,77-275,25 μm , formada por hifas aracnoidales flojamente entretejidas. Córtex inferior 18,44-66,74 μm de ancho paraplectenquimático compuesto por unas pocas capas celulares, semejante al córtex superior con células incoloras en muchas ocasiones una fina pigmentación marrón claro en la zona más expuesta a la superficie. Presentó tomento con hifas marrón claro.

Sticta caulescens De Not.

Talos heterómeros de 123-288 μm de grosor con córtex superior paraplectenquimático de 14,54-47,03 μm de ancho. Células regularmente isodiamétricas de 4-7 μm de diámetro. Lumen irregular de color marrón rojizo. Fotobionte cianobacteria, *Nostoc*. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células redondeadas de color verde oscuro, con gonidios encapsulados, regularmente más amplia que el córtex superior, aproximadamente de 20,33-64,52 μm de ancho. Capa medular blanca y en muchos ejemplares de color marrón rojizo de tamaño variado 46,16-

174,41 μm de ancho, formada por hifas aracnoidales flojamente entretejidas. Córtex inferior 18,01-40,33 μm de ancho paraplectenquimático compuesto por unas pocas capas celulares, semejante al córtex superior con células marrón claro. Presentó tomento con hifas incoloras.

Pseudocyphellaria flavicans (Hook. f. & Taylor) Vain.

Talos heterómeros de 238-628 μm de grosor con córtex superior paraplectenquimático de 28,73-66,71 μm de ancho. Células regularmente isodiamétricas de 6-10 μm de diámetro. Capas celulares incoloras pero en muchas ocasiones una pigmentación marrón claro en la zona más expuesta a la superficie. Lumen irregular de color amarillento. Fotobionte verde. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células globosas de color verde brillante, regularmente más amplia que el córtex superior, aproximadamente de 31,1-72,13 μm de ancho. Capa medular amarilla de tamaño variado 107,09-310,014 μm , formada por hifas aracnoidales entrelazadas con incrustaciones de color amarillo. Córtex inferior 22,83-113,33 μm de ancho paraplectenquimático de coloración marrón claro. Con células redondeadas a irregulares, \pm isodiamétricas de 4-8 μm de diámetro. Presentó tomento con hifas incoloras y en algunos ejemplares de color marrón claro.

Pseudocyphellaria granulata (C. Bab.) Malme.

Talos heterómeros de 206-577 μm de grosor con córtex superior paraplectenquimático de 27,39-80,22 μm de ancho. Células regularmente isodiamétricas de 4-9 μm de diámetro. Lumen irregular de color blanco. Fotobionte verde. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células globosas de color verde brillante, regularmente más amplia que el córtex superior, aproximadamente de 33,82-94,93 μm de ancho. Capa medular blanca de tamaño variado 97,09-382,77 μm , formada por hifas aracnoidales densamente entretejidas, con aspecto gelatinoso y granuloso a simple vista. Córtex inferior 22,41-65,78 μm de ancho paraplectenquimático con células de color marrón rojizo. Presentó tomento con hifas marrón claro.

Neprhoma antarcticum (Wulfen) Nyl var. *Antarcticum*.

Talos heterómeros de 167-520 μm de grosor con córtex superior paraplectenquimático de 30,7-64,9 μm de ancho. Lumen irregular de color blanco pero en muchas ocasiones los ejemplares presentaron una pigmentación marrón claro en la zona más expuesta a la superficie. Fotobionte verde. Capa algal ubicada entre el córtex superior y la médula con células globosas de color verde brillante, regularmente más amplia que el córtex superior, aproximadamente de 40,0-76,6 μm de ancho. Capa medular blanca de tamaño variado 63,03-368,44 μm , formada por hifas aracnoidales densamente entretejidas con incrustaciones de color blanco brillante y con aspecto gelatinoso.

Córtex inferior 17,43-114,38 μm de ancho paraplectenquimático con células de color marrón rojizo.